

Numéro d'ordre : D.U. 1610

UNIVERSITE BLAISE PASCAL
(U.F.R. de Recherche Scientifique et Technique)

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES FONDAMENTALES

N° : 465

THESE

Présentée pour obtenir le grade de

DOCTEUR D'UNIVERSITE
(Spécialité : CHIMIE ORGANIQUE BIOLOGIQUE)

Par

Hélène HENON
(Diplômé d'Etudes Approfondies de Chimie)

**SYNTHESE DE NOUVEAUX ANALOGUES DE LA
GRANULATIMIDE A VISEE ANTITUMORALE**

Soutenue publiquement le 10 novembre 2005 devant la Commission d'Examen :

Rapporteurs : S. RAULT, Pr., Université de Caen.
R. DODD, Directeur de recherche CNRS, Gif sur Yvette

Examineurs : J. BOLTE, Pr., Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand
B. PFEIFFER, Dr., Institut de Recherches Servier, Croissy-sur-Seine
F. ANIZON, Dr., Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand
M. PRUDHOMME, Pr., Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand

Invitée : N. KUCHARCZYK, Dr., Institut de Recherches Servier, Croissy-sur-Seine

Remerciements

Je tiens à remercier Mr. Jean Bolte, Directeur du laboratoire SEESIB de m'avoir accueilli et permis d'effectuer mes travaux de thèse au sein de son unité de recherche.

J'exprime ma profonde reconnaissance à Madame Michelle Prudhomme, ma directrice de thèse, de m'avoir proposé ce contrat et ainsi finaliser ma formation. Je la remercie pour la qualité de son coaching qui a conduit à la réussite de ce travail. Je remercie fortement mon co-encadrant, Fabrice Anizon, de m'avoir supporté pendant ces trois années. Je le remercie pour sa diplomatie, sa disponibilité, ses bons conseils à la paillasse, pour son soutien moral au quotidien et parce qu'il a fini par croire qu'une blonde pouvait aussi y arriver. Je les remercie tous les deux pour leur aide et leurs corrections lors de l'écriture de ce manuscrit.

Je remercie également Pascale Moreau, groupe oxindole, pour sa disponibilité et ses nombreux conseils.

Je remercie les Laboratoires SERVIER pour leur soutien financier, Monsieur Bruno Pfeiffer pour l'intérêt constant qu'il a porté à ce travail et pour son rôle en tant que médiateur ; Nathalie Kucharczyk pour son accueil chaleureux et sa sympathie lors de mon stage au sein des Laboratoires SERVIER. Je remercie également Isabelle Thérêt pour les études de modélisation moléculaire.

J'exprime mes sincères remerciements à mes deux rapporteurs Monsieur le Professeur Sylvain Rault et Monsieur Robert Dodd, Directeur de recherche, d'avoir accepté de juger ce travail et pour l'intérêt qu'ils lui ont porté.

Sinon, je ne saurais oublier tous les copains de paillasse sans qui ces trois années auraient été très très dures. Je veux bien évidemment parler de la Blonde II (M^{elle} Elisabeth Conchon) que j'adore et qui aura été mon rayon de soleil durant mes deux dernières années. Merci pour tout ma petite Zab, tu vas me manquer, surtout tes petites surprises. Merci aussi à Stéphane et à Virginie pour leur soutien moral quand je n'avais pas assez de Zab et pour tous les moments de détente et de rigolade.

Je remercie également les autres membres du labo, pour tous les moments de détente et leur sympathie : Elizabeth P., Roland, Bertrand .

Mais non Samir je ne t'ai pas oublié. Maintenant c'est à mon tour de ne plus faire partie de l'équipe Prudhomme. Merci Mirsa pour tout (si si possible). Nous ne sommes plus ensemble mais je suis sûre d'une chose c'est que notre amitié perdurera.

Spéciale dédicace à mes parents sans qui je n'aurais pas pu faire ces longues études, je leur dis également un grand merci pour leur soutien moral.

Enfin je ne saurais jamais assez remercier mon Fifi, qui est sûrement celui qui a le plus souffert pour me supporter durant toutes ces années. Pourtant c'est pas faute d'avoir essayé de me détendre au bar tous les Vendredi soirs voir plus en période de crise aiguë.

SOMMAIRE

<i>Introduction...</i>	1
PREMIERE PARTIE : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE.....	6
I. LE CYCLE CELLULAIRE	7
II. LES KINASES DU CYCLE CELLULAIRE ET LES POINTS DE CONTROLE	8
A. LES KINASES DU CYCLE CELLULAIRE.....	8
1. Définition.....	8
2. Les kinases du cycle cellulaire.....	9
B. LES POINTS DE CONTROLE DU CYCLE CELLULAIRE	10
1. Introduction.....	10
2. Détection et transmission du signal d'arrêt du cycle cellulaire.....	11
3. Le point de contrôle G1/S : la voie des p53-p21 et de la phosphatase Cdc25A.....	13
a) La voie de la phosphatase Cdc25A	14
b) La voie de la protéine p53.....	15
4. Le point de contrôle G2/M : la voie de la protéine p53 et de la phosphatase Cdc25C.....	16
a) La phosphatase Cdc25C	16
b) La protéine p53.....	17
5. Les points de contrôle et le cancer	17
III. LA PROTEINE KINASE CHK1	18
A. SON ROLE	18
B. SA STRUCTURE	19
IV. LES INHIBITEURS DES POINTS DE CONTROLE DU CYCLE CELLULAIRE	25
A. LES INHIBITEURS LES PLUS CONNUS	25
1. La caféine et quelques analogues.....	25
2. La staurosporine, UCN-01, et les analogues SB218078, Gö6976, ICP-1 et CEP-3891	26
3. La Wortmannine	29
4. L'hyménialdisine et ses dérivés	30
5. Le PD0166285	31
6. La 13-hydroxy-15-oxoapatline.....	32
7. Les aminopurines.....	32
8. La Leptomycine B et l'Amiloride.....	33
9. L'acide okadaïque, la calyculine et la fostriécine	34
10. La granulatinimide et l'isogranulatinimide	35
B. LES NOUVEAUX INHIBITEURS DE LA CHK1	48
1. La famille des pyrazoles	48
a) Les aminopyrazoles.....	49
b) Les inhibiteurs de kinases polycycliques pyrazoliques.....	51
c) Les dérivés pyrazoliques	51
2. Les thiazoles.....	55
3. La famille des thiophènes	57
4. Les indazoles.....	58
5. Inhibiteurs de type urée.....	62
6. Inhibiteurs hétéroaromatiques	65
a) Les carbazoles.....	65
b) Dérivés indoliques	69
c) Composés de type diazépiniq.....	70
d) Pyrimidines et pyrazines	72
e) Divers dérivés hétéroaromatiques	78
7. Inhibiteurs peptidiques et peptidomimétiques.....	82
8. Structures aromatiques non-hétérocycliques.....	83
V. CONCLUSION	84

DEUXIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION, SYNTHESE D'ANALOGUES DE LA GRANULATIMIDE 85

Chapitre I : Synthèse d'analogues du composé 1 88

I.	INTRODUCTION	88
II.	MODIFICATION DES CYCLES D ET E	90
III.	SYNTHESE DE BIS-IMIDES SUBSTITUES SUR LE CYCLE A	94
A.	SYNTHESE A PARTIR DES INDOLES COMMERCIAUX	94
B.	SYNTHESE DE COMPOSES SUBSTITUES SUR LE CYCLE A PAR COUPLAGE PALLADO-CATALYSE	102
1.	Couplage à partir du 5-iodoindole	102
a)	Introduction d'un groupement éthyle	102
b)	Couplage du phénylacétylène	105
c)	Couplage de l'alcool allylique	107
d)	Essai de couplage de Sonogashira de la Cbz-propargylamine	112
2.	Couplage sur un dérivé bromé	113
a)	Essai de couplage d'un indolylsuccinimide bromé avec la Cbz-propargylamine	113
b)	Essais d'introduction d'un nitrile	114
c)	Formylation	116
d)	Essais de couplage sur des bis-imides	116
(1)	Protection des imides	117
(2)	Réaction de couplage sur le composé 71	118
(3)	Tri-protection imidique et indolique et couplage	119
(4)	Conclusion	120
3.	Accès au dérivé iodé par échange d'halogène	121
a)	Méthode de Klapars <i>et al.</i>	121
b)	Méthode par échange halogène-métal	122
c)	Autres méthodes par substitution nucléophile aromatique	124
d)	Conclusion	124
4.	Accès au dérivé iodé : étude de la réaction de Michaël	125
5.	Réactions de couplage en fin de synthèse sur un bis-imide iodé	127
a)	Essai sur le composé 30 non-protégé	127
b)	Protection du composé 30	128
c)	Les couplages	128
d)	Déprotection	129
(1)	Introduction	129
(2)	Déprotection au TBAF	130
(3)	Avec HF	131

Chapitre II : INTRODUCTION D'UN GROUPEMENT SOLUBILISANT SUR LE CYCLE B 133

I.	INTRODUCTION	133
II.	INTRODUCTION D'UN β-GLUCOSIDE	133
A.	AVEC UN GROUPEMENT METHYLE SUR LE CYCLE D COMME GROUPE PROTECTEUR	134
1.	Glycosylation	134
a)	Méthode de Danishefsky	134
b)	Réduction de l'indole	136
c)	Méthode de Mitsunobu	137
2.	Synthèse du composé final	140
a)	Stratégie de synthèse	140
b)	Accès au composé déprotégé pour la réaction de Diels-Alder	140
B.	SYNTHESE UTILISANT UN BOM COMME GROUPEMENT PROTECTEUR	143
1.	Stratégie de synthèse	143
2.	Glycosylation et réaction de Diels-Alder	144
3.	Oxydation des composés 84	146
4.	Déprotection	148
5.	Modification de la partie osidique	149
a)	Accès au sucre acétylé	149
b)	L'amine en 6	150
(1)	Accès à l'azoture	150

(2) Accès à l'amine en 6 : réduction de l'azoture	151
III. INTRODUCTION D'UNE CHAÎNE PORTANT UN RESIDU AMINOACIDE	153
A. PREMIERE STRATEGIE	153
1. Essais sur le composé 1 sans protection.....	154
2. Essais de couplage à partir du composé 1 protégé	155
a) Protection de imides.....	155
b) Introduction des chaînes sur le composé 92	156
(1) Introduction d'un 3-aminopropyle avec le carbonate de césium.....	156
(2) Introduction d'un 2-cyanoéthyle avec le Triton B.....	156
(3) Méthylation de l'azote indolique	157
B. NOUVELLE STRATEGIE DE SYNTHESE.....	159
1. Synthèse des électrophiles.....	159
2. Couplage sur le composé 92	160
3. Essai de déprotection du composé 98	162
IV. COUPLAGE DIRECT DES AMINOACIDES SUR L'AZOTE INDOLIQUE	163
1. Couplage à partir d'un acide carboxylique	163
a) Couplage sur le composé 92	163
b) Couplage sur le carbazole	164
2. Couplage sur le composé 92 à partir d'un chlorure d'acide	165
3. Test avec le chlorure d'acétyle.....	166

Chapitre III : SYNTHESE DE L'ISOSTERE AZAINDOLE DU COMPOSE **1**168

I. INTRODUCTION	168
I. SYNTHESE DE L'ANALOGUE AZA DU COMPOSE 1	170
1. Choix de la voie de synthèse	170
2. Synthèse en série N-méthylée	171
3. Synthèse en série NH... ..	172

CONCLUSION178

TROISIEME PARTIE : TESTS D'ACTIVITE BIOLOGIQUE... ..180

INTRODUCTION	181
I. PRINCIPES DES DIFFERENTS TESTS	181
A. ACTIVITE ANTIPROLIFERATIVE	181
B. EFFET SUR LE CYCLE CELLULAIRE	181
II. ACTIVITES DES ANALOGUES DU COMPOSE 1	182
A. ACTIVITES DES COMPOSES DE REFERENCE.....	182
B. LES COMPOSES DONT LES CYCLES D ET E SONT MODIFIES.....	182
C. LES COMPOSES SUBSTITUES SUR LE CYCLE A	183
D. LES COMPOSES SUBSTITUES SUR LE CYCLE B.....	186
E. LES ISOSTERES AZAINDOLE DU COMPOSE 1	187
III. CONCLUSION187	

CONCLUSION GENERALE et PERSPECTIVES.....189

PARTIE EXPERIMENTALE.....196

PARTIE EXPERIMENTALE I : chimie197

PARTIE EXPERIMENTALE II : tests biologiques300

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....302

INTRODUCTION

La division cellulaire est le processus fondamental par lequel une cellule-mère donne deux cellules-filles identiques, copies conformes de la cellule dont elles sont issues. Le cycle cellulaire est essentiel au développement embryonnaire mais également vital pendant toute la durée de la vie d'un organisme adulte. Ainsi, l'être humain adulte est constitué de 10 000 milliards de cellules provenant toutes d'une seule et même cellule : l'ovule fécondé. Tous les jours, un milliard de cellules doivent être renouvelées pour remplacer celles qui meurent, en particulier les cellules de la peau et du tube digestif. Ce mécanisme de division cellulaire est extrêmement complexe et régulé par un grand nombre de protéines intervenant de façon transitoire et dans un ordre très précis.

Il arrive occasionnellement qu'une anomalie de régulation de la division cellulaire apparaisse dans une cellule en cours de division. L'apparition de ces anomalies est favorisée par certains agents cancérigènes : produits de combustion du tabac, amiante □ Une fois les anomalies établies, la cellule peut devenir cancéreuse et alors se développer librement créant une tumeur qui, par métastases, peut quitter son tissu de départ pour venir essaimer dans d'autres tissus.

Tous cancers confondus, la France comptait 280 000 nouveaux cas en 2000 contre 150 000 cas en 1980 soit une progression dans l'apparition de cancers de 63 % et de la mortalité de 19 %. Si l'on supprime le rôle de l'accroissement de la population et du vieillissement, la progression est encore de 36 %. De nouvelles tendances inquiétantes pourraient également voir le jour face aux modifications de nos comportements alimentaires ainsi qu'à la baisse de l'activité physique. On note également des prévisions peu optimistes liées au tabagisme. Le cancer du poumon n'est pas le plus fréquent (quatrième place) mais il arrive en première place en terme de mortalité. Ce type de cancer restait jusqu'à présent à 80 % de tendance masculine. Pour l'avenir, les prévisions des épidémiologistes indiquent que la mortalité des femmes par cancer du poumon devrait doubler entre 2000 et 2020 pour atteindre près de 60 000 décès entre 2015 et 2019.

On comprend alors l'intérêt d'étudier le cycle cellulaire et ses régulateurs dont les anomalies sont souvent à l'origine des cancers.

D'importantes recherches ont été effectuées afin de comprendre les mécanismes moléculaires qui régulent le cycle de division cellulaire. Il a été montré que l'on pouvait considérer les régulateurs du cycle cellulaire comme des cibles privilégiées pour la conception d'agents antitumoraux.

Le cycle cellulaire comporte 4 phases, G₁, S, G₂ et M (**Figure 1**).

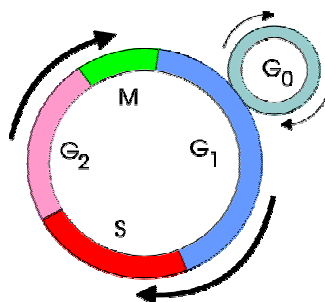


Figure 1 : Le cycle cellulaire.

La progression du cycle cellulaire est régulée par l'activation ordonnée de kinases appelées kinases cyclines-dépendantes. L'inhibition de ces kinases peut bloquer le cycle et empêcher la division cellulaire. De plus, il existe des points de contrôle (« checkpoints ») au cours du cycle qui assurent une sorte de contrôle qualité à chaque étape et bloquent son déroulement lorsqu'une anomalie est détectée, par exemple lorsque l'ADN est endommagé, ce qui permet sa réparation.

En revanche, les cellules cancéreuses sont incapables d'activer le point de contrôle en G₁ par suite d'une mutation du gène *p53*. De plus, leur point de contrôle en G₂ est partiellement défectueux. Cette différenciation génétique entre cellules saines et cancéreuses permet d'envisager et de choisir comme cible le point de contrôle en G₂ afin d'élaborer de nouveaux agents antitumoraux. En effet, ses inhibiteurs devraient augmenter l'efficacité d'agents endommageant l'ADN conduisant sélectivement les cellules tumorales vers une mitose précoce et létale.

Des indolocarbazoles comme la staurosporine et l'UCN-01 (**Figure 2**) présentent des activités inhibitrices très intéressantes sur la kinase checkpoint 1 (Chk1), une kinase qui intervient au niveau du point de contrôle en G₂.

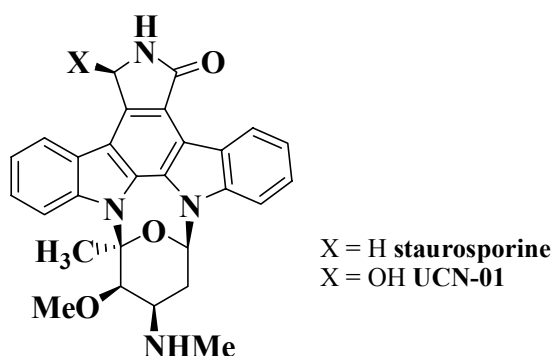


Figure 2 : Indolocarbazoles inhibiteurs de la Chk1.

On note également la granulitimide et l'isogranulitimide (**Figure 3**) qui sont des molécules naturelles isolées de l'ascidie *Didemnum granulatum*. Ce sont des inhibiteurs intéressants du point de contrôle en G2.

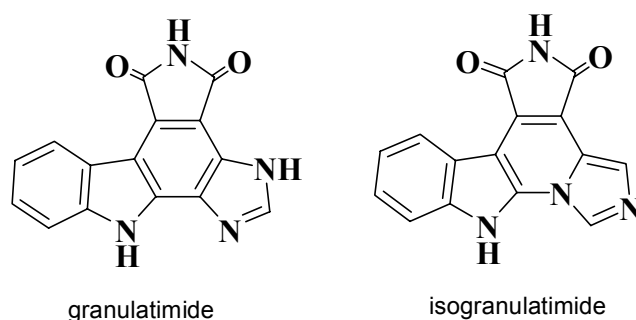


Figure 3 : Structures de la granulitimide et de l'isogranulitimide

Bernadette Hugon et Samir Messaoudi au cours de leur thèse, ont effectué la synthèse de plusieurs analogues de ces produits naturels (**Figure 4**) dont quelques structures sont décrites ci-dessous.

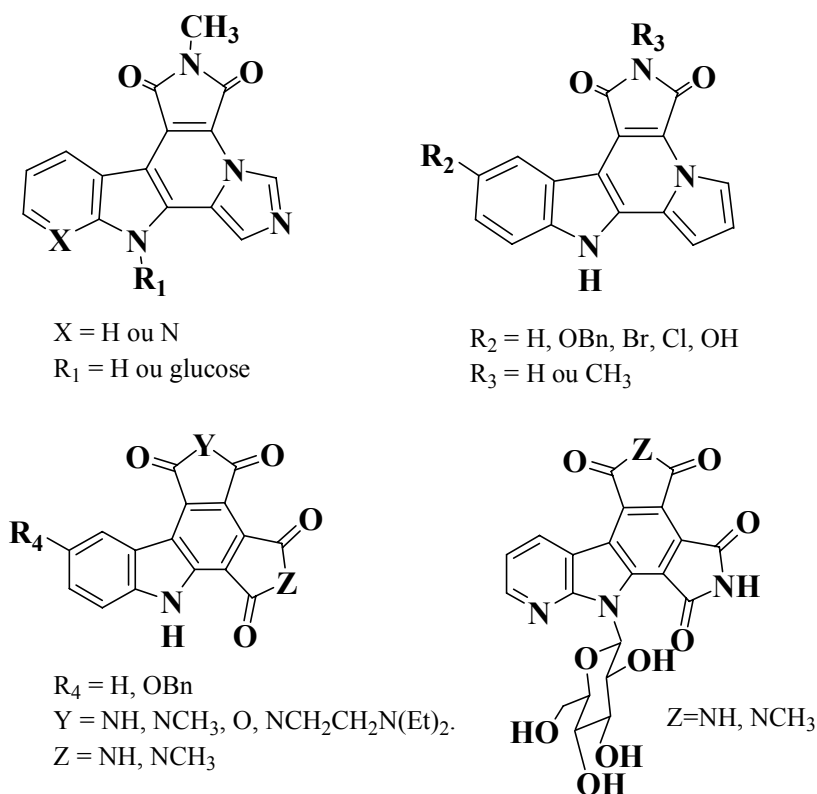


Figure 4 : Analogues déjà synthétisés au laboratoires.

Dans certains de ces composés, l'hétérocycle indole a été remplacé par un 7-azaindole et l'hétérocycle imidazole par un pyrrole ou un maléimide. Ces derniers étant particulièrement insolubles, nous avons voulu entreprendre diverses modifications structurales afin d'augmenter leur solubilité. Les groupements introduits peuvent également modifier l'affinité de ces composés vis-à-vis de leur(s) cible(s) biologique(s).

Nous avons envisagé l'introduction de groupements solubilisants de type acide aminé et de type osidique sur l'azote indolique, et de divers substituants sur la partie aromatique et l'azote imidique. L'analogue en série 7-azaindole a également été synthétisé (**Figure 5**).

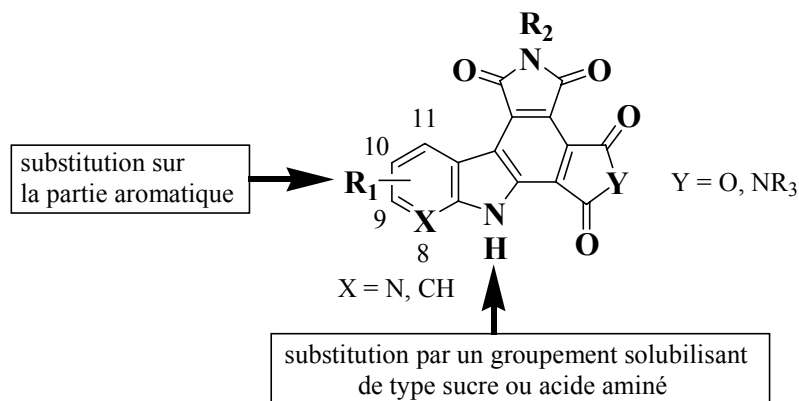


Figure 5 : Modifications structurales envisagées pour la synthèse de nouveaux analogues de la granulatimide et de l'isogranulatimide.

Ce mémoire se divisera en trois parties :

- Une première partie sera consacrée à une étude bibliographique où seront présentés les kinases du cycle cellulaire et plus particulièrement la kinase checkpoint 1 ainsi que ses inhibiteurs décrits dans la littérature.
- Dans une deuxième partie nous développerons les synthèses réalisées et nous présenterons les cytotoxicités des produits obtenus.
- La partie expérimentale constituera la troisième partie de ce mémoire.

Première partie

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Le cycle cellulaire

Le cycle cellulaire est le processus par lequel une cellule se divise pour donner deux cellules filles qui sont les copies conformes de la cellule de départ. Ce processus comporte plusieurs phases, G1, S, G2 et M. Lorsqu'elle ne se divise pas, la cellule se trouve dans une phase non proliférative de repos apparent, dite G0. La cellule contient alors 2N chromosomes. Celle-ci, sous l'effet d'agents mitogènes, entre dans la première phase de division cellulaire G1 (phase de « Gap », intervalle) pendant laquelle la cellule va passer par un point de restriction (ou point de non retour) à partir duquel la cellule commence définitivement son cycle de division cellulaire.

La phase G1 prépare à la phase S de réplication de l'ADN. La phase G2 précède la phase M (Mitose), constituée de deux étapes, la première pendant laquelle les chromosomes dédoublés se répartissent dans les deux cellules filles grâce au fuseau mitotique (mitose), la deuxième permettant l'individualisation des deux cellules filles (cytodérèse).

L'étape de mitose est elle-même divisée en cinq périodes décrites essentiellement d'après la morphologie des chromosomes et de l'enveloppe nucléaire :

- la prophase : fin de condensation des chromosomes et rupture de l'enveloppe nucléaire,
- la prométaphase : formation du fuseau mitotique et début de l'alignement des chromosomes,
- la métaphase : les chromosomes sont alignés et au centre de la cellule,
- l'anaphase : disjonction des chromosomes,
- la télophase : mouvement chromosomique vers les pôles, disparition du fuseau mitotique, condensation des chromosomes.

Une fois la division cellulaire achevée la cellule peut quitter le cycle pour retourner en phase G0 sous l'action d'agents anti-mitogènes ou suite à la disparition des agents mitogènes.

Les quatre phases (G1, S, G2, M) du cycle cellulaire s'enchaînent de façon coordonnée, chaque cycle ne pouvant commencer que lorsque le précédent s'est bien déroulé.¹

La plupart des agents antitumoraux actuellement sur le marché interviennent sur le déroulement du cycle cellulaire (**Figure 6**).

¹ Meijer L. *Oncologie*, **2003**, 5, 311-326.

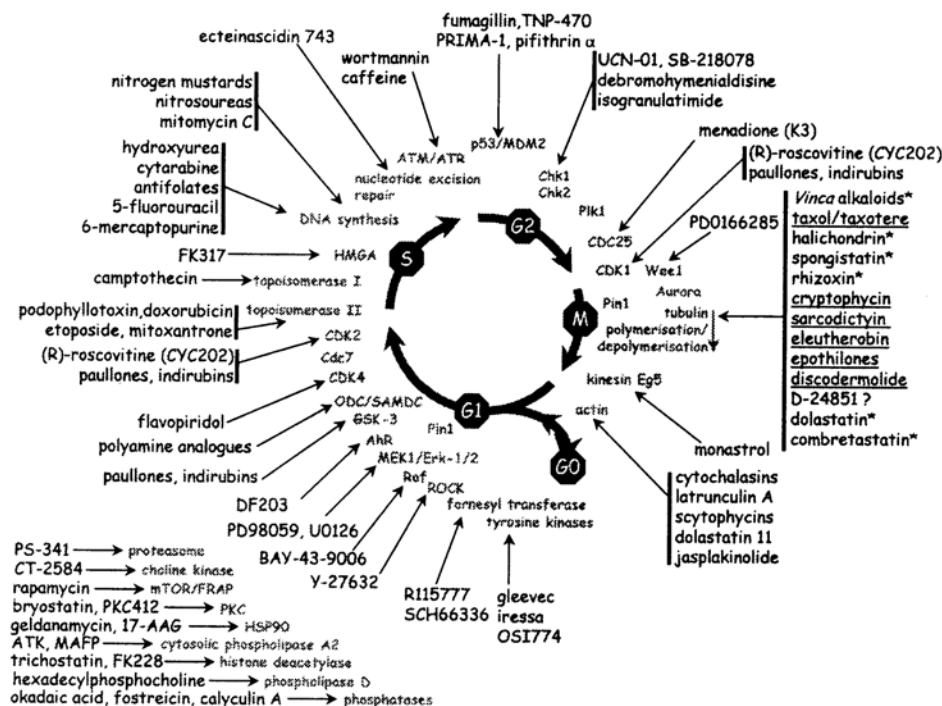


Figure 6¹ : Composés antitumoraux intervenant dans les différentes phases du cycle cellulaire. Les composés qui interviennent dans plusieurs phases du cycle cellulaire ou à des moments encore mal définis sont indiqués en bas à gauche.

II. Les kinases du cycle cellulaire et les points de contrôle

A. Les kinases du cycle cellulaire

1. Définition

L'une des découvertes majeures dans l'étude des mécanismes du cycle cellulaire a été l'identification d'une famille de sérine/thréonine protéines kinases, les kinases cyclines-dépendantes (CDKs). Celles-ci jouent un rôle essentiel pour le déclenchement, le contrôle et la succession des différentes phases du cycle cellulaire. Les CDKs sont actives uniquement sous forme d'un complexe constitué d'une sous-unité catalytique (la CDK) et d'une sous-unité régulatrice appelée cycline. Le séquençage du génome humain a montré qu'il existait 13 CDKs et 25 cyclines. Toutes les combinaisons CDK/cyclines n'ont pas encore été identifiées à ce jour.¹

¹ Meijer L. *Oncologie*, 2003, 5, 311-326.

2. Les kinases du cycle cellulaire

La régulation des CDKs du cycle cellulaire peut être résumée comme suit : les CDK4 et CDK6, associées à des cyclines de type D, régulent le déroulement de la phase G1. Le complexe CDK2/cycline E prend le relais pour assurer la transition G1/S, suivi du complexe CDK2/cycline A qui assure la progression de la phase S. La CDK1/cycline A intervient en phase G2 puis le complexe CDK1/cycline B régule la transition G2/M et l'entrée en mitose (Figure 7).

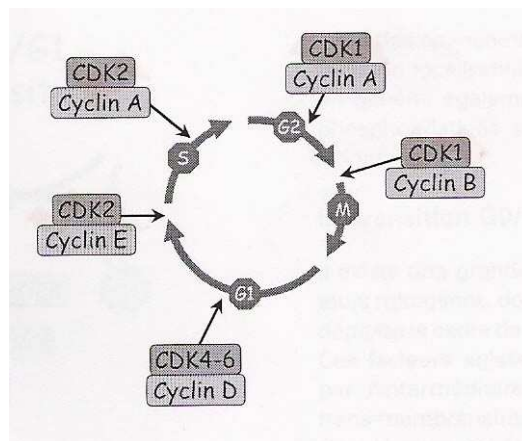


Figure 7¹ : Les complexes CDK/cycline qui contrôlent le cycle cellulaire.

Ces différents complexes sont régulés selon quatre niveaux^{1,2} :

- l'assemblage transitoire des complexes CDK/cycline est lié à la durée de vie des cyclines, généralement courte,
- des changements très importants de localisation intracellulaire en général régulés par des phosphorylations et déphosphorylations. Par exemple, pendant l'interphase, la cycline B1 se situe principalement dans le cytoplasme. Au moment de la transition G2/M, la phosphorylation de la cycline B1 maintient celle-ci dans le noyau ce qui lui permet d'activer ses substrats,
- des modifications post-traductionnelles, essentiellement des phosphorylations et déphosphorylations, entraînent l'activation ou l'inactivation des CDKs. Celles-ci sont inactivées lorsqu'elles sont phosphorylées sur deux résidus adjacents situés au bord de la poche de fixation de l'ATP. Dans le cas de la CDK1, il s'agit des résidus thréonine-14 et tyrosine-15 qui sont phosphorylés par les kinases Wee1 et Myt1. Cette inactivation est levée par une famille de phosphatases, les Cdc25 (A, B, C). Les trois Cdc25 sont très similaires

¹ Meijer L. *Oncologie*, **2003**, 5, 311-326.

² Pommier Y. ; Kohn K. W. *Médecine/Sciences*, **2003**, 19, 173-186.

(50% d'homologie de séquence) et pourtant elles fonctionnent à différents points de contrôle du cycle cellulaire : la Cdc25A est nécessaire à la transition de G1 à S et les Cdc25B et C assurent le passage en phase M. La Cdc25C peut être phosphorylée par une Polo-like Kinase Plk1 et par le complexe CDK1/cycline B1. Par contre les CDKs sont activées par phosphorylation d'un résidu thréonine dans la partie C-terminale dite « boucle T » (thréonine-161 pour la CDK1, la thréonine-160 pour la CDK2) par les kinases CAK (Cycline Activated Kinase ou complexe CDK7/cycline H) et c-TAK1,

- des associations transitoires avec deux familles d'inhibiteurs protéiques CKI (Cycline-dependent Kinase Inhibitors) : la famille des INK4 (p16^{INK4a}, p15^{INK4b}, p18^{INK4c} et p19^{INK4d}) qui interfère spécifiquement avec les CDK4 et 6 en empêchant la fixation de la cycline D, et la famille des CIP/KIP (p21^{Waf1/Cip1/Sid1}, p27^{Kip1} et p57^{Kip2}) qui se fixe sur les complexes CDK/cycline comme le complexe CDK2/cycline E et les inactive par formation d'hétérotrimères.

B. Les points de contrôle du cycle cellulaire : les checkpoints

1. Introduction

Pour surveiller le bon déroulement du cycle cellulaire, il existe des mécanismes de contrôle, (« checkpoints »), qui jouent un rôle essentiel. Ces points de contrôle ont été identifiés par Hartwell, Nurse et Hunt, ce qui leur a valu le prix Nobel de physiologie et de médecine en 2001.

Dès qu'une anomalie est détectée (lésions de l'ADN, ADN non complètement répliqué, chromosomes non attachés au fuseau mitotique □), les checkpoints bloquent le déroulement du cycle afin de permettre les actions nécessaires comme la réparation de l'ADN ou, si l'ADN est trop endommagé, le déclenchement du programme de mort cellulaire.

Ce système de contrôle est constitué de quatre niveaux (**Figure 8**) :

- les détecteurs (sensors) qui sont sensibles aux anomalies de l'ADN, aux défauts du cytosquelette ou aux perturbations métaboliques,
- les médiateurs (mediators) qui sont des protéines associées aux détecteurs et aux transducteurs de signaux dans certaines phases du cycle cellulaire et aident à la spécificité de transduction du signal,
- les messagers (transducers), qui sont des protéines kinases et des molécules régulatrices,

- les effecteurs (effectors), qui agissent directement sur les molécules impliquées dans le cycle cellulaire, la réplication et la réparation de l'ADN ou l'apoptose.

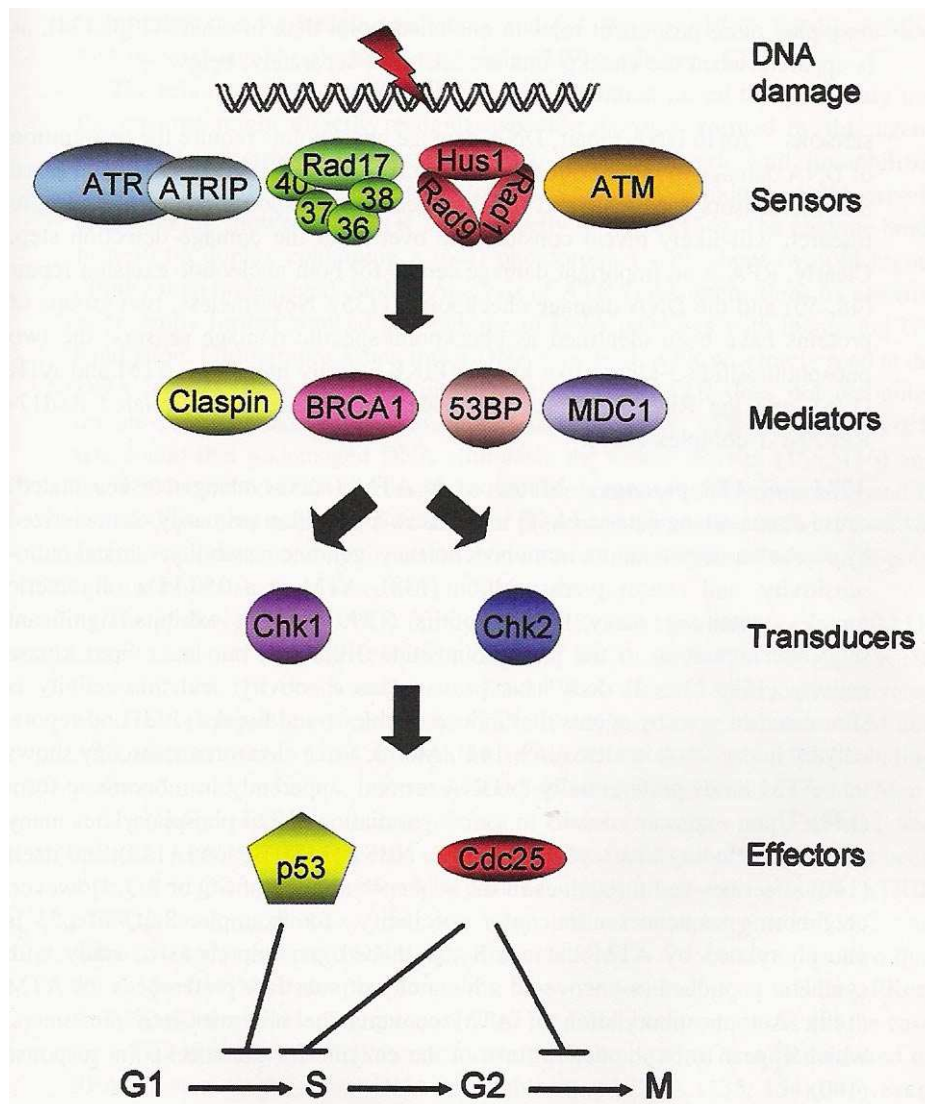


Figure 8³ : Transduction du signal en réponse aux dommages de l'ADN.

Cependant, cette classification n'est pas absolue, car un composant peut intervenir à plusieurs niveaux. Par exemple l'ATM, un détecteur, peut également intervenir en tant que messenger.

2. Détection et transmission du signal d'arrêt du cycle cellulaire

Lorsque l'ADN est endommagé, il existe deux groupes de détecteurs protéiques appartenant à la famille des PIKKs (PhosphoInositide 3-Kinase-like Kinases) capables de détecter les anomalies : les kinases ATM et ATR, et les complexes Rad17-RCF et 9-1-1. Ces protéines permettent l'initiation d'un signal transmis par une cascade faisant intervenir deux

³ Sancar A. ; Lindsey-Boltz L. A. ; Unsal-Kaçmaz K. ; Linn S. *Ann. Rev. Biochem.*, **2004**, 73, 39-85.

sérine/thréonine kinases : Chk1 et Chk2. Ce signal va activer la protéine p53 ou les phosphatases Cdc25A et C et inactiver les CDK1 et CDK2 ce qui conduit à l'arrêt du cycle cellulaire en G2/M et G1/S respectivement (**Figures 9 et 10**).

La Chk2 est exprimée indépendamment du cycle cellulaire et de la prolifération cellulaire alors que le taux de Chk1 varie pendant le cycle cellulaire et est maximal pendant les phases S et G2. Les checkpoints kinases Chk1 et Chk2 possèdent des substrats communs (p53, Cdc25A/C et BRCA1). Elles pourraient donc avoir des effets redondants afin d'assurer la surveillance du cycle cellulaire quoi qu'il arrive.

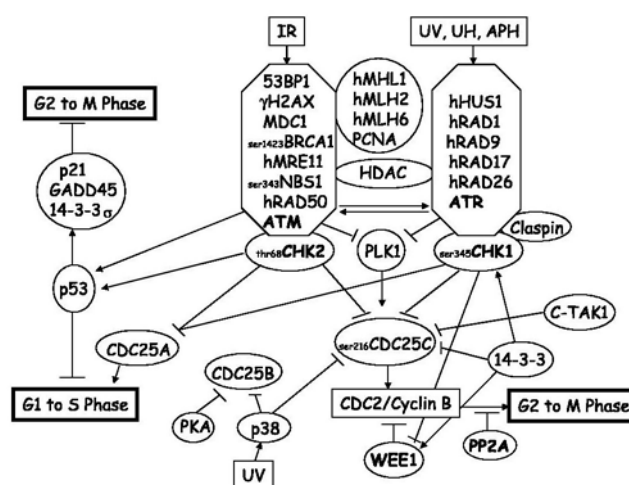


Figure 9⁴ : Voies des points de contrôle en G1/M et G2/S.

La kinase ATM (Ataxia Telangiectesia Mutated) est activée en réponse aux radiations ionisantes et aux coupures double brin de l'ADN. Celle-ci est mutée chez les patients atteints d'ataxia-télangiectésie, maladie dont l'une des caractéristiques est la déficience des points de surveillance du cycle cellulaire. Cette maladie engendre dégénération cérébrale, immunodéficiência et prédisposition aux cancers.

La kinase ATR possède une homologie de séquence avec ATM et SpRad3, d'où son nom. Contrairement à ATM, ATR est plutôt activée par irradiation UV et par les erreurs de réplication. En effet, des études d'électrophorèse ont montré que l'ATR se lie à l'ADN sous irradiation UV. Contrairement à l'ATM, l'ATR ne reconnaît pas les cassures double brin de l'ADN.

Le rôle central des deux kinases ATM et ATR dans les points de surveillance du cycle cellulaire est soutenu par leur activité régulatrice sur des protéines clés du cycle cellulaire

⁴ Kawabe T. *Mol. Cancer Ther.*, **2004**, 513-519.

telles que p53, Mdm2, les kinases Chk1 et Chk2, ainsi que sur différentes protéines de réparation telle que BRCA1.

On peut retenir qu'il existe deux voies parallèles : la voie ATM-Chk2 qui répond aux cassures double brin de l'ADN et la voie ATR-Chk1 qui répond aux blocages des fourches de réplication et aux lésions produites par les rayonnements UV.

Lorsque les dommages sont dus à des rayonnements UV, la voie ATR-Chk1 est activée en premier pour initier l'arrêt en G2 alors la voie ATM-Chk2 maintient l'arrêt du cycle. Lorsqu'il s'agit de coupures double brin induites par des radiations ionisantes, l'ordre est alors inversé.

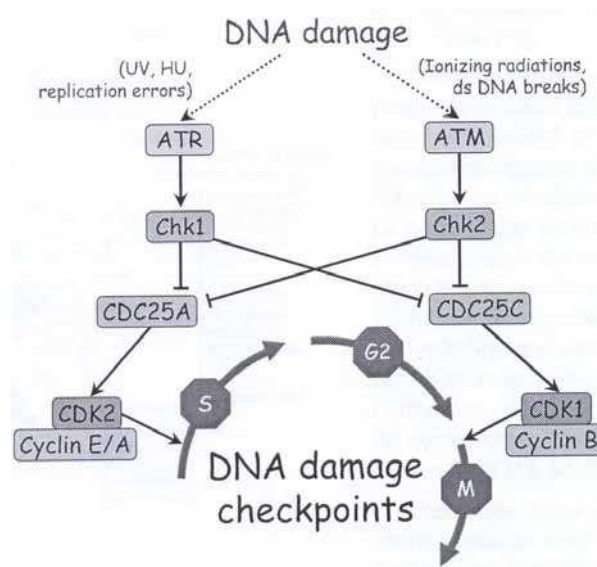


Figure 10¹ : Contrôle de l'intégrité de l'ADN.

3. Le point de contrôle G1/S : la voie des p53-p21 et de la phosphatase Cdc25A (Figure 11)³

Les phosphorylations des Chk1 et Chk2 vont entraîner deux types de réponses.

¹ Meijer L. *Oncologie*, **2003**, 5, 311-326.

³ Sancar A. ; Lindsey-Boltz L. A. ; Unsal-Kaçmaz K. ; Linn S. *Ann. Rev. Biochem.*, **2004**, 73, 39-85.

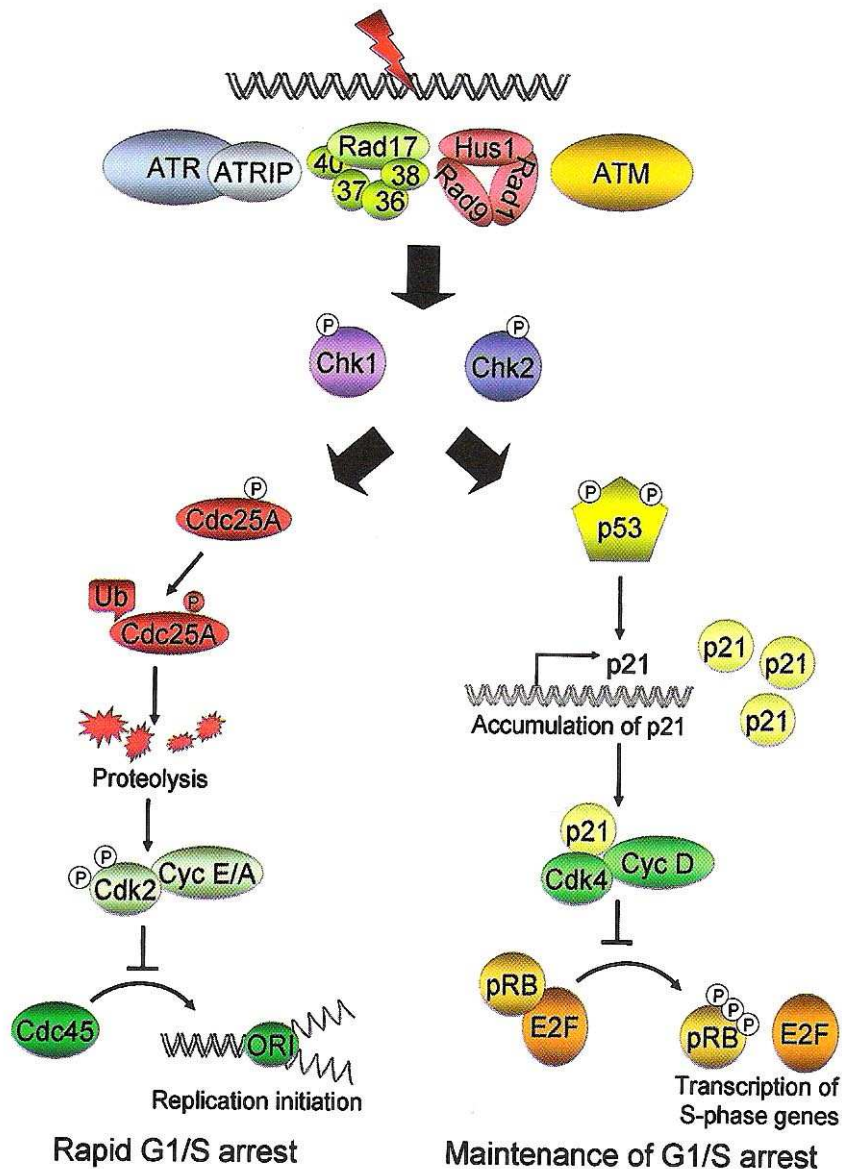


Figure 11³ : Contrôle de l'état de l'ADN et blocage en G1/S.

a) La voie de la phosphatase Cdc25A

Ce mécanisme est le plus rapide et est la cause de l'arrêt en G1. Il implique une série de cascades de kinases ATM-Chk2-Cdc25A ou ATR-Chk1-Cdc25A dont l'activation conduit à la phosphorylation de la Cdc25A causant son inactivation par exclusion du noyau et par dégradation par protéolyse par l'intermédiaire de l'ubiquitine. L'absence de Cdc25A active dans le noyau entraîne une accumulation de la forme phosphorylée inactive de la CDK2 qui

³ Sancar A. ; Lindsey-Boltz L. A. ; Unsal-Kaçmaz K. ; Linn S. *Ann. Rev. Biochem.*, **2004**, 73, 39-85.

est alors incapable de phosphoryler la Cdc45, protéine dont le rôle est d'initier la réplication sur les sites des complexes ORC-ORI (**Figure 11**).

b) La voie de la protéine p53^{2,3}

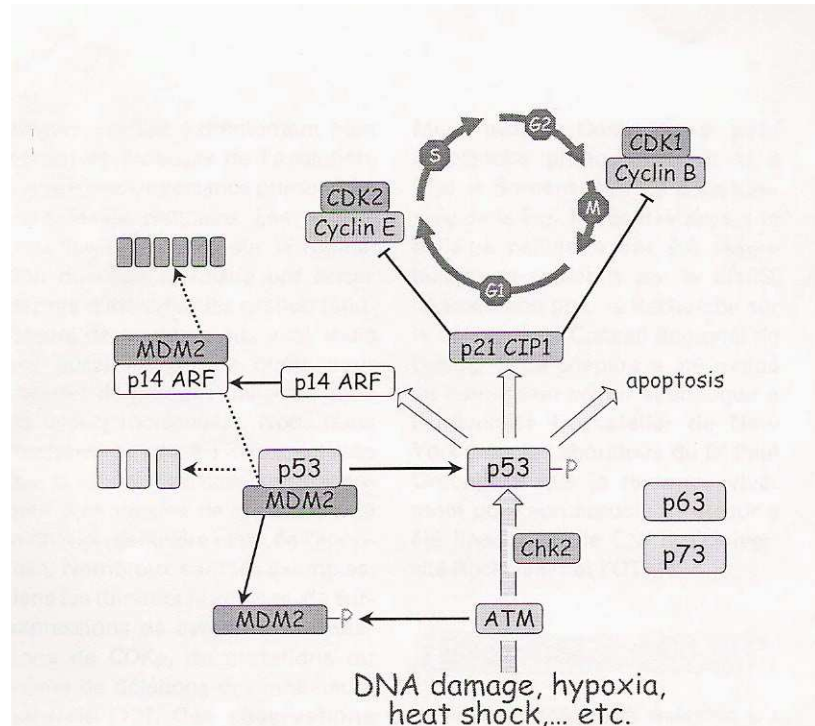


Figure 12¹ : Fonction de la protéine p53 dans la réponse aux dommages de l'ADN.

Ce mécanisme de contrôle par la protéine p53 est plus lent et induit le maintien en G1 (**Figures 11 et 12**).

La phosphorylation de la p53 induit la transcription du gène *p21^{Waf1/Cip1}*. La protéine p21^{Waf1/Cip1} se lie au complexe CDK4/cycline D empêchant ainsi la phosphorylation de Rb nécessaire à la libération du facteur de transcription E2F et par suite à la transcription des gènes nécessaires à la phase S. La p21^{Waf1/Cip1} se lie aussi au complexe CDK2/cycline E, ce qui l'inactive et assure par ce fait le maintien de l'arrêt en G1/S.

La protéine p53 a une période de demi-vie très courte. Dans les conditions normales, elle n'est présente qu'en faible quantité. En effet, p53 se fixe au facteur Mdm2 ce qui conduit à sa dégradation d'où sa faible abondance dans les cellules saines.

Les perturbations au niveau de l'ADN augmentent la stabilisation de p53 selon plusieurs mécanismes : tout d'abord, la kinase ATM est activée et phosphoryle Mdm2, inhibant l'interaction Mdm2/p53 ce qui libère et stabilise p53. Par ailleurs, l'ATM phosphoryle la p53

¹ Meijer L. *Oncologie*, **2003**, 5, 311-326.

² Pommier Y. ; Kohn K. W. *Médecine/Sciences*, **2003**, 19, 173-186.

³ Sancar A. ; Lindsey-Boltz L. A. ; Unsal-Kaçmaz K. ; Linn S. *Ann. Rev. Biochem.*, **2004**, 73, 39-85.

(directement ou indirectement par Chk2), renforçant sa stabilité. Enfin, la p53 induit la transcription du gène *p14^{ARF}*. La protéine *p14^{ARF}* se fixe sur Mdm2 et induit sa dégradation rapide, renforçant encore davantage la stabilisation et l'accumulation de la p53. Lorsque la cellule est déficiente en p53, ainsi que le sont la plupart des cellules cancéreuses qui ont leur gène *p53* muté, l'arrêt en G1 est atténué et les cellules entrent en phase S malgré la présence d'anomalies au niveau de l'ADN.

4. Le point de contrôle G2/M : la voie de la protéine p53 et de la phosphatase Cdc25C (Figure 13).

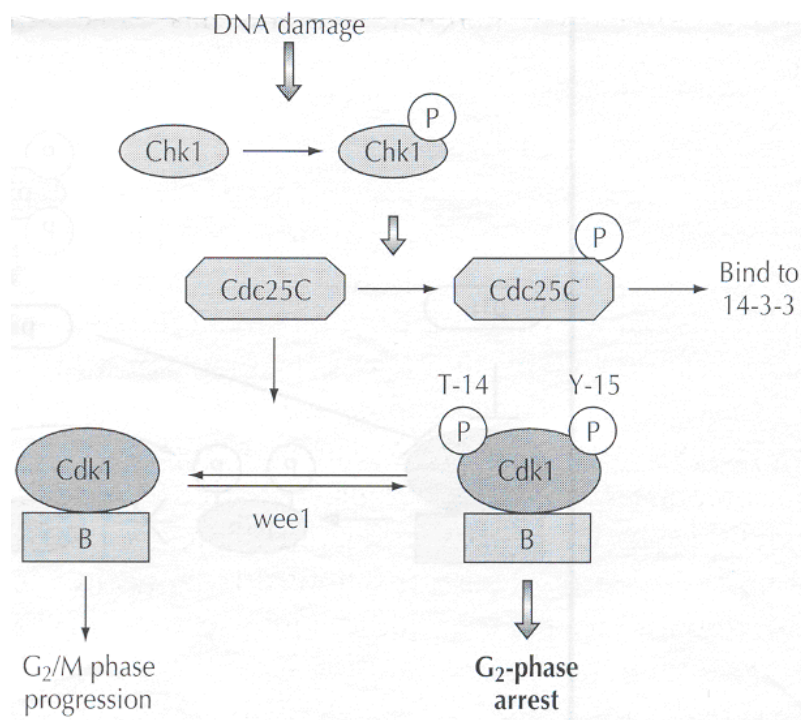


Figure 13⁵ : Le point de contrôle en G2.

Deux mécanismes interviennent dans l'arrêt en G2 : l'un lent, sous contrôle transcriptionnel de p53 et l'autre rapide par phosphorylation de la Cdc25C.

a) La phosphatase Cdc25C²

Les kinases Chk1 et Chk2 jouent un rôle prédominant dans la réponse rapide en phosphorylant la Cdc25C sur la sérine-216. Cette phosphorylation crée un site d'attachement pour la protéine 14-3-3 σ ce qui entraîne la séquestration de la protéine Cdc25C dans le cytoplasme loin de son substrat nucléaire, la CDK1. Les lésions de l'ADN peuvent aussi

⁵ Sampath D. ; Plunkett W. *Curr. Opin. Oncology*, **2001**, 13, 484-490.

² Pommier Y. ; Kohn K. W. *Médecine/Sciences*, **2003**, 19, 173-186.

inactiver la Cdc25C en inhibant l'action de la Polo-like kinase Plk1, nécessaire à son activation. La réponse rapide peut également être due à une séquestration du complexe CDK1/cycline B1 dans le cytoplasme des cellules présentant des lésions d'ADN, empêchant alors la phosphorylation des substrats nucléaires impliqués dans la transition G2/M.

b) La protéine p53

La protéine p53 n'est pas nécessaire pour l'arrêt en G2 mais joue plutôt un rôle dans le maintien en G2 en bloquant l'activité du complexe CDK1/cycline B.

La protéine p21^{Waf1/Cip1} inhibe directement la CDK1, mais bloque également la CAK, qui normalement active la CDK1 par phosphorylation de sa thréonine-161. L'induction de Gadd45 bloque elle aussi l'activité de la kinase CDK1. L'induction de 14-3-3 σ provoque la séquestration de la cycline B1 et de sa kinase CDK1 ainsi que de la Cdc25C dans le cytoplasme.

5. Les points de contrôle et le cancer

Comme nous venons de le voir, les fonctions des points de contrôle sont assurées par des voies multiples et parallèles, chaque point de contrôle répondant spécifiquement à un type précis de lésion ou d'anomalie de l'ADN. Les checkpoints contrôlent également d'autres réponses cellulaires telles que l'initiation du programme de mort cellulaire (apoptose) lorsque la réparation de l'ADN a échoué. La mutation des gènes jouant un rôle dans les points de contrôle du cycle cellulaire prédispose à l'apparition des cancers. En effet, on note une mutation du gène *p53* dans environ 50% des cancers. Les patients porteurs de mutations héréditaires de *p53* présentent une prédisposition élevée aux cancers, avec une incidence élevée sur les sarcomes, les carcinomes mammaires, cérébraux et de la glande surrénale, ainsi qu'une fréquence anormale de leucémies. Il en résulte que beaucoup de cellules cancéreuses ont un point de contrôle en G1 déficient. Récemment, des mutations de la Chk2 ont été identifiées dans un groupe de patients atteints du syndrome de Li-Fraumeni (ce syndrome héréditaire est caractérisé par la présence très fréquente de sarcomes des tissus mous, de cancers du sein, de tumeurs du cerveau, de leucémies et de cancers des surrénales. 80% des sujets atteints de ce syndrome sont porteurs de mutations héréditaires de la *p53*) mais chez qui la *p53* est normale, ce qui montre l'importance de la Chk2 comme suppresseur de tumeur, la *p53* étant substrat de la Chk2. La Chk2 phosphoryle la *p53* sur le résidu sérine-20. Les

mutations d'ATM prédisposent aux lymphomes et aux leucémies lymphoïdes chroniques. Les mutations de BRCA1 prédisposent aux cancers de l'ovaire et du sein.²

Cette différence génétique entre cellules cancéreuses et cellules saines nous permet d'envisager l'élaboration des nouveaux agents antitumoraux spécifiques et puissants. Un des modes de thérapie anticancéreuse pourrait consister en l'action simultanée d'inhibiteurs du point de contrôle en G2 du cycle cellulaire et d'agents endommageant l'ADN (chimiothérapie ou radiations ionisantes) ce qui conduirait sélectivement les cellules cancéreuses, très perturbées au niveau de leur ADN, vers une mitose non viable.

Récemment^{4,6} des études ont permis de montrer la différence entre Chk1 et Chk2 dans la réponse aux dommages de l'ADN. Ces études ont montré que la kinase Chk1 pouvait être envisagée comme une cible sélective et efficace pour l'élaboration de nouveaux agents antitumoraux. Les expériences ont été menées sur des cellules cancéreuses dont le point de contrôle en G1 est déficient, les p53 et p21 ayant été inactivées par mutation génétique. Ainsi, une inhibition du point de contrôle en G2 a été mise en évidence sur des cellules soumises à des radiations ionisantes ou même à l'action d'agents chimiques, ce qui a entraîné la mort cellulaire.

III. La protéine kinase Chk1

A. Son rôle

La sérine/thréonine checkpoint kinase Chk1, comme nous l'avons vu précédemment, joue un rôle essentiel en tant que messenger dans l'arrêt du cycle cellulaire (**Figure 8**). La Chk1 a initialement été identifiée chez *Schizosaccharomyces pombe*. Son gène est conservé dans tout le règne eucaryote. Des études ont montré que le rôle de la Chk1 est à peu près similaire dans les cellules de *S. pombe* et de mammifère.

En réponse aux dommages de l'ADN, la Chk1 phosphoryle la Cdc25C sur son résidu Ser216. Il en résulte l'inactivation de la CDK1 et l'arrêt du cycle cellulaire en G2.

Des expériences⁷ ont permis de montrer que la Chk1 est essentielle pour les mécanismes de contrôle pendant le cycle cellulaire, pour l'arrêt en G2 et la survie de la cellule après

² Pommier Y. ; Kohn K. W. *Médecine/Sciences*, **2003**, 19, 173-186.

⁴ Kawabe T. *Mol. Cancer Ther.*, **2004**, 3, 513-519.

⁶ Carrassa L. ; Broggin M. ; Rerba E. ; Damia G. *Cell Cycle*, **2004**, 3, 1177-1181.

⁷ Luo Y. ; Rockow-Magnone S. K. ; Kroeger P. E. ; Frost L. ; Chen Z. ; Han E. K-H. ; Ng S-C. ; Simmer R. L. ; Giranda V. L. *Neoplasia*, **2001**, 3, 411-419.

dommage de l'ADN. Les cellules étudiées ont été transfectées avec des antisens d'ADNc de Chk1, des ribozymes ou des oligonucléotides antisens afin de bloquer l'expression de la Chk1. Les cellules présentant une diminution du niveau de Chk1 ont montré une plus grande prédisposition à l'apoptose. De plus, en présence d'un agent endommageant l'ADN tel que l'adriamycine ou l'étoposide, les cellules dont le taux de Chk1 est faible, ont présenté une déficience du point de contrôle en G2 et une augmentation de la mort cellulaire a été notée.

Le taux de survie des cellules traitées avec de l'adriamycine, en présence ou en l'absence d'UCN-01 ou de staurosporine, a été étudié : l'UCN-01 et la staurosporine (des inhibiteurs de la Chk1) augmentent l'efficacité de l'adriamycine (entre autres dans les cellules de carcinome du poumon H1299).

Il en résulte que le blocage de l'expression de la Chk1 sensibilise les cellules tumorales aux agents endommageant l'ADN et donc que l'inhibition de la Chk1 est une nouvelle approche pertinente et spécifique dans le traitement des cancers.

B. Sa structure⁸

La Chk1 humaine est une protéine nucléaire constituée de 476 résidus acides aminés. Elle contient un domaine kinase *N*-terminal (résidus 1-265), un lien flexible et un domaine *C*-terminal moins bien conservé. La structure cristalline de la partie contenant les résidus 1 à 289 de la Chk1 humaine, donne de bonnes indications quant à sa régulation et son site actif.

La structure cristalline de l'apoenzyme Chk1KD et de son complexe binaire avec l'analogue de son substrat d'origine l'ATP, l'AMP-PNP, a été déterminée avec une résolution de 1,7 Å (**Figure 14**). La Chk1KD est constituée des 289 premiers acides aminés de la Chk1 humaine afin de conserver le domaine kinase et d'un groupe de 6 histidines sur l'extrémité *C*-terminale. Il n'y a pas de changement de conformation de la Chk1KD entre le complexe binaire de l'AMP-PNP et l'apoenzyme. Dans les deux structures, le site de fixation de l'ATP, les résidus catalytiques et la boucle d'activation sont bien ordonnés.

⁸ Chen P. ; Luo C. ; Deng Y. ; Ryan K. ; Register J. ; Margosiak K. ; Tempczyk-Russell A. ; Nguyen B. ; Myers P. ; Lundgren K. ; Kan C. C. ; O'Connor P. *Cell.*, **2000**, *100*, 681-692.

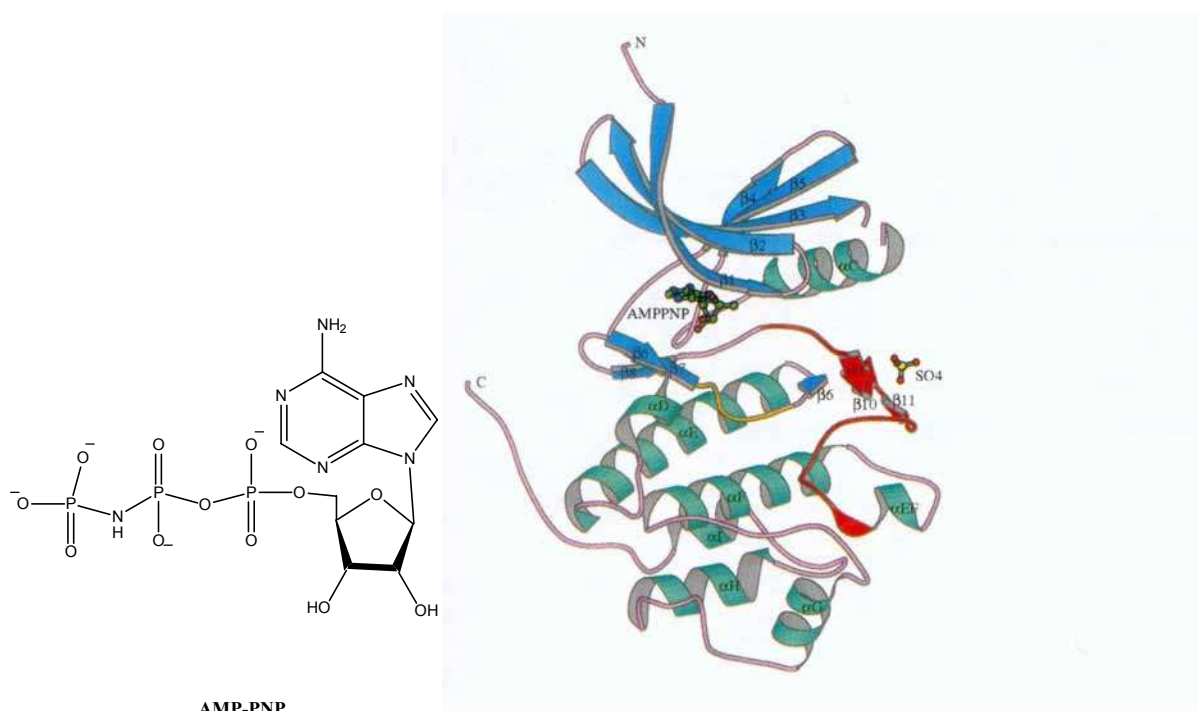


Figure 14⁸ : Structure cristalline de la Chk1KD.

Les hélices α sont représentées en vert, les feuillets β en bleu, la boucle d'activation en rouge et la boucle catalytique en orange.

La boucle d'activation :

La boucle d'activation sert d'interrupteur moléculaire à de nombreuses kinases. Pour la CDK2, la phosphorylation de la thréonine-160 de cette boucle est nécessaire à son activation. Or, il n'y a pas d'équivalent de cette thréonine dans la boucle d'activation de la Chk1, ce qui indique que la régulation de la Chk1 s'effectue selon un mécanisme différent. En effet, la boucle d'activation de la Chk1 est déjà repliée dans une conformation active. Normalement, la phosphorylation de la boucle d'activation fournit une charge négative qui permet de regrouper un ensemble de chaînes latérales chargées positivement et de cette manière permet de stabiliser les conformations actives de la boucle d'activation et du site catalytique. Dans la Chk1KD, un groupe de charges positives est déjà formé par la Lys54, l'Arg129, l'Arg162 et la Lys166 sans phosphorylation de la boucle d'activation. Un ion sulfate, pouvant mimer un phosphate, interagit avec les chaînes latérales de l'Arg129, de l'Arg162 et de la Thr153.

En fait, les kinases qui sont activées par phosphorylation de leur boucle d'activation ont une Tyr/Thr dans la position correspondant à la lysine-166 de la Chk1KD et une Lys/Arg dans la position correspondant à la thréonine-153 de la Chk1KD. La lysine-166 pointe sa chaîne latérale vers le groupement thiol du résidu Cys168. Les chaînes latérales de l'Arg129 et de la

⁸ Chen P. ; Luo C. ; Deng Y. ; Ryan K. ; Register J. ; Margosiak K. ; Tempczyk-Russell A. ; Nguyen B. ; Myers P. ; Lundgren K. ; Kan C. C. ; O'Connor P. *Cell.*, **2000**, *100*, 681-692.

Lys166 formeraient un environnement basique pour la formation d'un ion thiolate qui serait alors stabilisé par la charge positive de l'arginine-129.

Le site catalytique et liaison à l'AMP-PNP :

La Tyr20 présente dans la Chk1 humaine correspond à la Tyr15 de la CDK1 dont la phosphorylation entraîne l'inactivation. Cependant, le remplacement de la Tyr20 par une glutamine ou une phénylalanine n'affecte pas de façon significative l'activité kinase. La comparaison des complexes de la Chk1KD et de la PhK (Phosphorylase Kinase) avec l'AMP-PNP révèle une similitude de conformation locale au niveau des résidus du site catalytique (Figure 15).

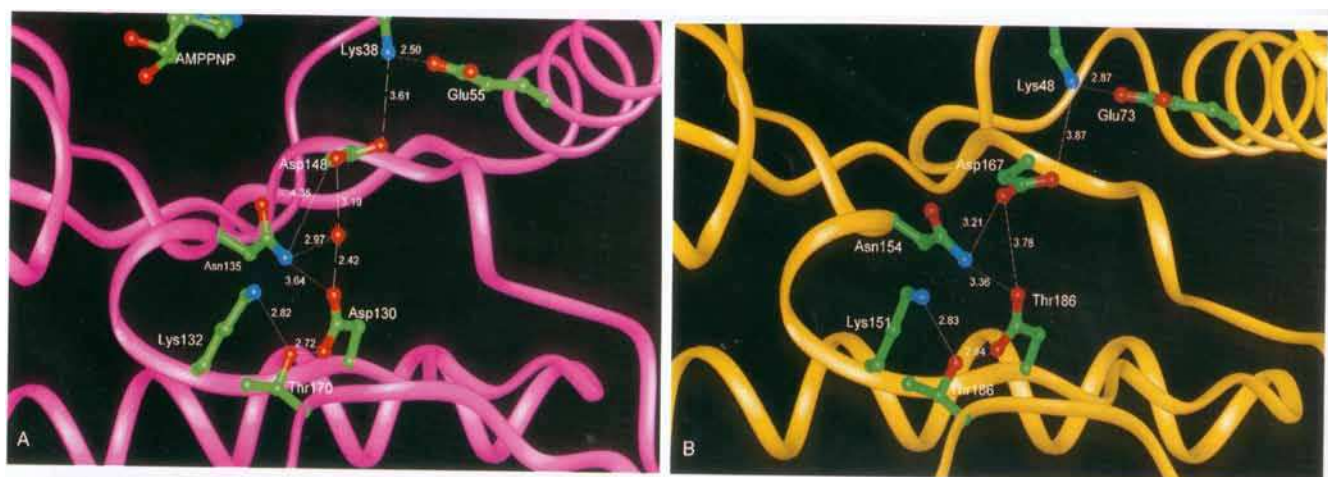


Figure 15⁸ : Site catalytique de la Chk1KD et de la PhK.

La différence entre les complexes avec la Chk1KD et la PhK est la distance entre les chaînes latérales des résidus importants pour la catalyse, avec une plus grande ouverture du lobe catalytique pour la Chk1KD.

La conformation du ribose de l'AMP-PNP ne permet pas la bonne orientation des phosphates. En effet, le ribose de l'AMP-PNP, dans la structure binaire de la Chk1KD, adopte une conformation C2'-endo (semblable à celle observée dans la forme inactive de la CDK2) et non C3'-endo (conformation observée dans la structure active des kinases). Cette conformation C2'-endo du ribose résulte probablement de la plus grande ouverture du lobe catalytique de la Chk1KD mais aussi de la partie triphosphate flexible de l'AMP-PNP sur laquelle n'est pas observée de densité électronique. Ces deux paramètres, changements

⁸ Chen P. ; Luo C. ; Deng Y. ; Ryan K. ; Register J. ; Margosiak K. ; Tempczyk-Russell A. ; Nguyen B. ; Myers P. ; Lundgren K. ; Kan C. C. ; O'Connor P. *Cell.*, **2000**, *100*, 681-692.

conformationnels de la Chk1KD et du ribose sont nécessaires à l'alignement des phosphates de l'ATP pour l'activité catalytique.

Pour conclure, il est suggéré que l'activité kinase de la Chk1 n'est pas régulée par la phosphorylation de son domaine kinase.

Structure des complexes de la Chk1 avec ses inhibiteurs

La staurosporine, l'UCN-01 et le SB218078 sont des inhibiteurs puissants de la Chk1 (**Figure 16 et Tableau 1**).

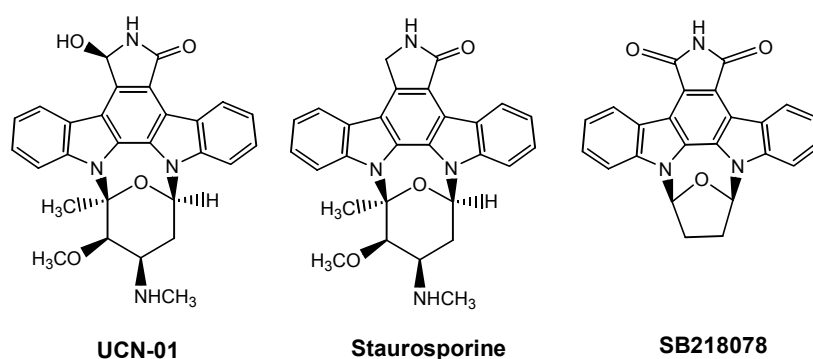


Figure 16 : Structures des composés.

Composés	IC ₅₀ (μM)		
	Chk1	CDK1	PKC
SB218078	0,015	0,25	1
Staurosporine	0,008	0,06	0,005
UCN-01	0,007	0,1	0,004

Tableau 1 : Valeurs d'IC₅₀ en μM sur différentes kinases

Pour comprendre les bases structurales de l'inhibition de la Chk1 par ces composés, les structures cristallines des complexes entre le domaine kinase de la Chk1 et l'UCN-01, la staurosporine et le SB218078 ont été déterminées (**Figure 17 et Figure 18**).

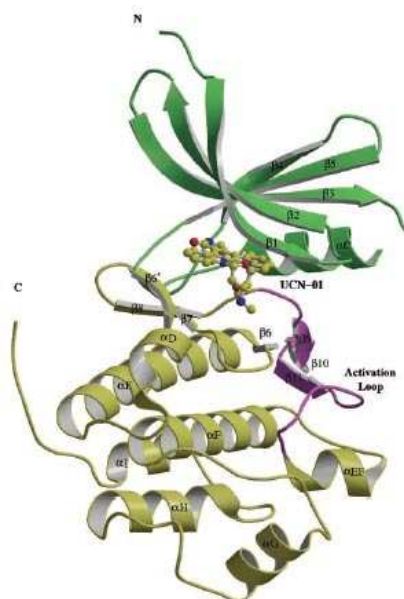


Figure 17⁹ : Structure en ruban du complexe formé entre le domaine kinase de la Chk1 et de l'IUCN-01.

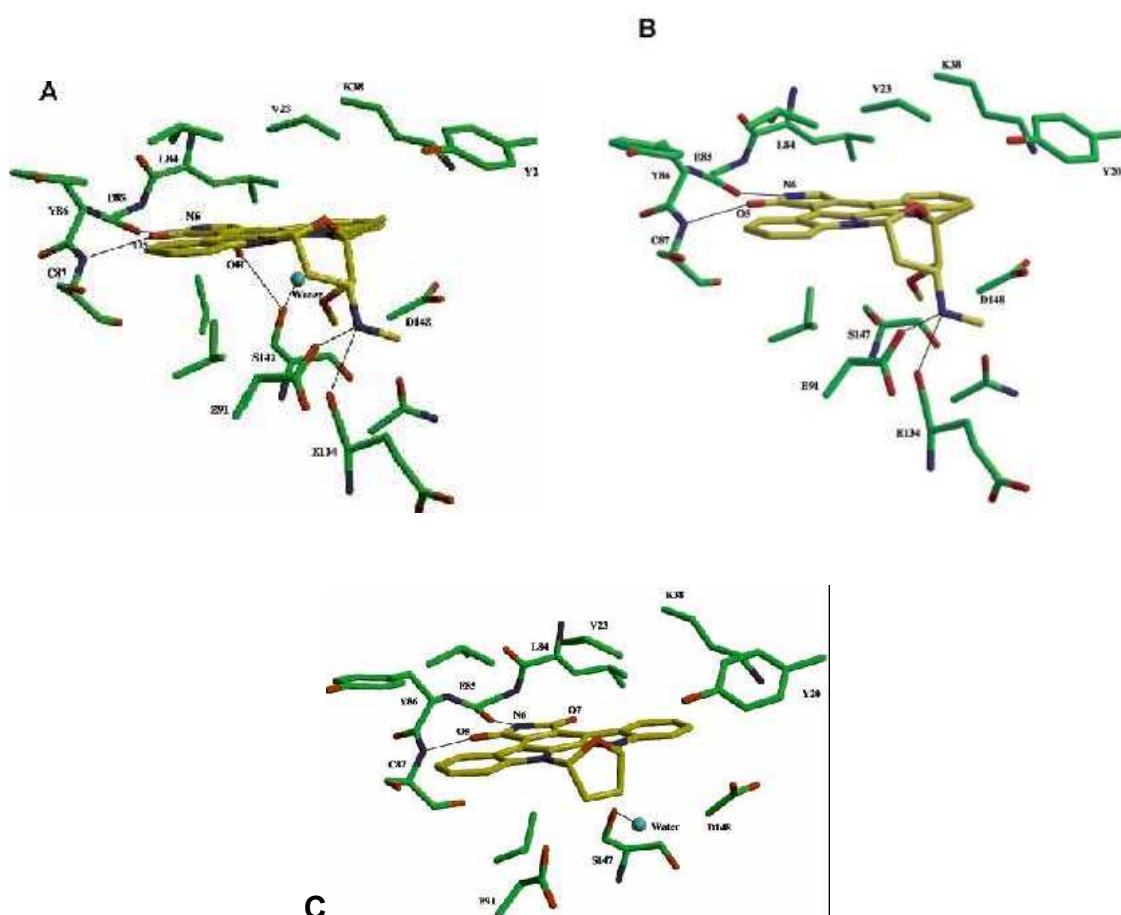


Figure 18⁹ : Diagramme montrant les liaisons entre l'IUCN-01 (A), la staurosporine (B) et le SB218078 (C) et le site actif de la Chk1.

⁹ Zhao B. ; Bower M. J. ; McDewitt P. J. ; Zhao H. ; Davis S. T. ; Johanson K. O. ; Green S. M. ; Concha N. O. ; Zhou B-B. S. *J. Biol. Chem.*, **2002**, 277, 46609-46615.

Les trois composés se lient à la poche de fixation de l'ATP produisant seulement un léger changement de conformation de la protéine (ouverture des deux lobes catalytique et d'activation), alors que la fixation de l'AMP-PNP n'induit pas de modifications notables. Le lactame de l'UCN-01 et de la staurosporine et le maléimide du SB218078 miment l'adénine de l'ATP en ce qui concerne les interactions par liaisons hydrogène. La sélectivité de l'UCN-01 envers la Chk1 par rapport aux CDKs (**Tableau 1**) peut s'expliquer par la présence du groupement hydroxyle sur le lactame qui modifie les interactions avec la poche de liaison de l'ATP.

Plusieurs chaînes latérales pouvant interagir avec la zone en C7 de l'UCN-01 (correspondant à la position du groupement hydroxyle) sont différentes dans la Chk1 et dans les CDKs. Ainsi par exemple, la Leu84 de la Chk1 est remplacée par une Phe80 dans la CDK2 et une Phe95 dans la CDK4 (**Figure 19**).

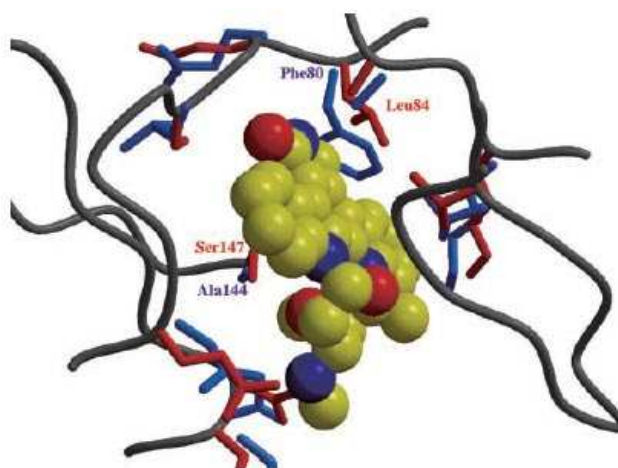


Figure 19⁹ : Superposition des sites de fixation de l'ATP de la Chk1 et de la CDK2, en complexe avec la staurosporine.

Les chaînes latérales de la Chk1 sont en rouge et celles de la CDK2 en bleu.

Bien que ce remplacement n'altère pas la nature hydrophobe des interactions, une chaîne latérale plus encombrée peut interférer avec la liaison de l'inhibiteur, si un groupement plus encombrant que l'hydroxyle est introduit.

Un élément très significatif est que le groupement hydroxyle de l'UCN-01 forme une liaison hydrogène avec la Ser147 de la Chk1, qui est remplacée par une alanine dans les CDK1, CDK2 et CDK4. En raison de la présence du groupement hydroxyle en position C7 dans

⁹ Zhao B. ; Bower M. J. ; McDewitt P. J. ; Zhao H. ; Davis S. T. ; Johanson K. O. ; Green S. M. ; Concha N. O. ; Zhou B-B. S. *J. Biol. Chem.*, **2002**, 277, 46609-46615.

l'UCN-01, il existe une haute complémentarité et sélectivité entre la Chk1 et l'UCN-01, contrairement à la staurosporine.

IV. Les inhibiteurs des points de contrôle du cycle cellulaire

Plusieurs composés, naturels ou synthétiques, ont déjà été répertoriés comme inhibiteurs du point de contrôle en G2.

Depuis l'identification de la caféine comme le premier inhibiteur du point de contrôle en G2, sont apparus, entre autres la staurosporine et ses dérivés, les aminopurines, la wortmannine, les hyménialdisines, le PD0166285, et plusieurs autres composés naturels tels la granulatimide et l'isogranulatimide. Plus récemment, de nouveaux composés ont été décrits dans la littérature et dans différents brevets. C'est ce que nous allons développer dans ce chapitre.

A. Les inhibiteurs les plus connus

1. La caféine et quelques analogues^{2,10}

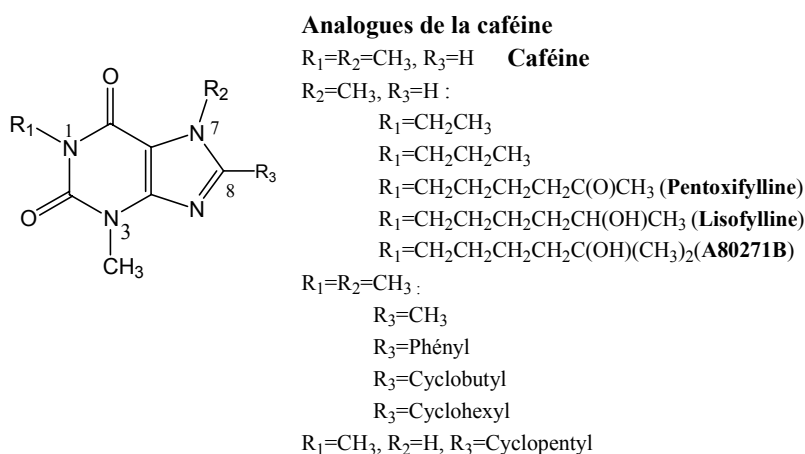


Figure 20 : La caféine et quelques analogues synthétiques.

La caféine est le premier composé décrit comme inhibiteur du point de contrôle en G2 du cycle cellulaire (**Figure 20**). Elle inhibe le point de contrôle en G2 avec une IC₅₀ de 0,6 mM. Elle inhibe également le point de contrôle en G1 et réduit la stabilisation de p53 après irradiation. Ces effets multiples ont récemment été attribués à l'inhibition directe des protéines kinases ATM et ATR. Cependant, les nombreuses activités pharmacologiques de la

² Pommier Y. ; Kohn K. W. *Médecine/Sciences*, **2003**, 19, 173-186.

¹⁰ Anderson H. J. ; Andersen R. J. ; Roberge M. *Progress in Cell Cycle Research* (Meijer L. ; Jézéquel A. ; Roberge M. eds.), **2003**, 5, 423-430.

caféine et sa toxicité aux concentrations millimolaires requises pour l'inhibition du point de contrôle l'excluent d'une utilisation clinique. L'un de ses analogues, la pentoxifylline, est moins toxique et inhibe le point de contrôle en G2 avec une IC_{50} de 0,8 mM. Ce composé sensibilise sélectivement les cellules déficientes en p53 aux agents endommageant l'ADN. En essais cliniques sur le cancer cervical, le cisplatine en combinaison avec la pentoxifylline n'a pas montré une augmentation d'efficacité par rapport au cisplatine seul. Cependant, en phase III, sur des cancers du poumon non à petites cellules, la pentoxifylline en combinaison avec des radiations ionisantes, a montré une modeste augmentation du temps de rechute.

Une étude de relations structure-activité sur la caféine a été mise en oeuvre dans le but de trouver un meilleur inhibiteur. Sur les 56 analogues étudiés, seuls des substituants en position 1 ou en position 8 sont tolérés pour maintenir l'inhibition en G2 et dix analogues seulement présentent des IC_{50} inférieures à 2 mM. La mauvaise solubilité de nombreux analogues est également un inconvénient de ces composés.

2. La staurosporine, l'UCN-01, et les analogues SB218078, Gö6976, ICP-1 et CEP-3891 (Figure 21).

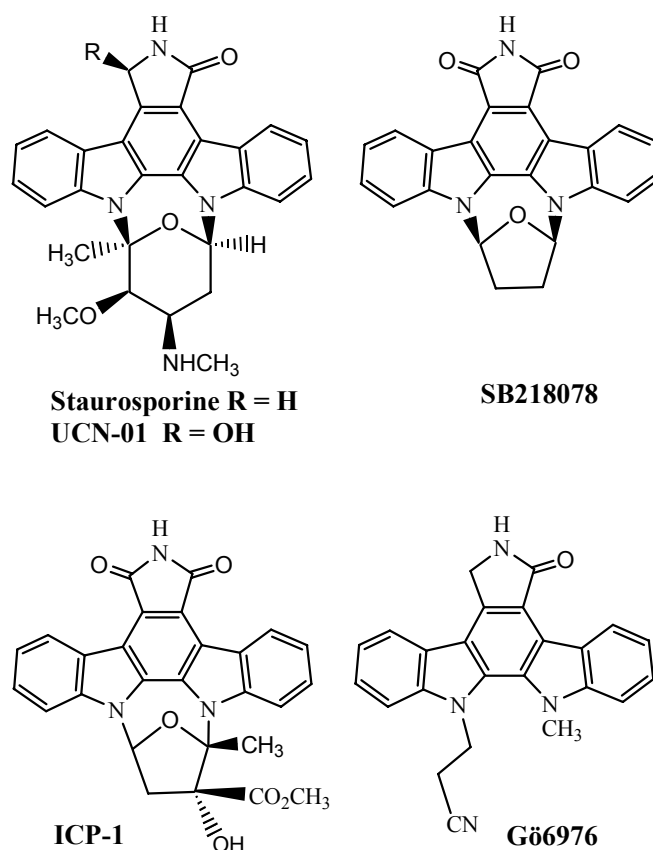


Figure 21 : Structures de la staurosporine, de l'UCN-01, de SB218078, de Gö6976 et de l'ICP-1.

La staurosporine¹¹, un métabolite secondaire de bactérie, a initialement été identifiée comme un inhibiteur nanomolaire de la protéine kinase C (PKC). Plus tard, il a été montré que la staurosporine était un inhibiteur non sélectif de kinases. La staurosporine inhibe aussi la Chk1 avec une IC₅₀ de 8 nM. Néanmoins, du fait de sa faible sélectivité et de sa forte toxicité, la staurosporine n'a pas fait l'objet d'études cliniques.

L'UCN-01 (la 7-hydroxystaurosporine)² est actuellement en essais cliniques (phases II/III). Ce composé a été isolé de cultures de *Streptomyces* et initialement caractérisé comme inhibiteur de la protéine kinase C. Selon la dose utilisée, l'UCN-01 peut inhiber les points de contrôle du cycle cellulaire, arrêter la progression cellulaire en G1 ou induire l'apoptose.² L'UCN-01 inhibe la Chk1 avec une IC₅₀ de 7 nM. L'arrêt en G1 est corrélé avec une déphosphorylation de pRb, une inhibition de la CDK2 par déphosphorylation, une réduction du taux de cycline A et une activation de p21^{Waf1/Cip1}. Cet arrêt est également dû à une protéolyse de E2F1.

A des concentrations utilisées en clinique (< 0,3 µM), l'UCN-01 n'a qu'une activité antiproliférative modeste. Cependant, il potentialise remarquablement l'activité des chimiothérapies classiques qui produisent des lésions de l'ADN (comme la mitomycine C, le témolozomide, le cisplatine ou la camptothécine) ou qui interfèrent avec le métabolisme de l'ADN (5-fluoro-uracile ou méthotrexate). Cette synergie s'explique par une suppression des points de contrôle en G2 et en S. Elle est généralement plus importante pour les cellules présentant des anomalies de la p53.

Récemment, les cibles moléculaires de l'UCN-01 ont été mieux identifiées avec, entre autres, la kinase Chk1. L'UCN-01 pourrait aussi activer la Cdc25C en inhibant Wee1. Il semble donc que l'effet de l'UCN-01 soit la résultante d'une inhibition de plusieurs kinases, en particulier la Chk1 et peut-être la Chk2 et la Wee1. L'inhibition de la Chk2 pourrait expliquer la suppression du point de contrôle de la phase S observé dans les cellules traitées à la camptothécine. L'UCN-01 inhibe aussi la phosphorylation de la protéine de réplication et de réparation RPA2 (Replication Protein A) dans ces mêmes cellules. Des observations récentes suggèrent également que l'UCN-01 potentialise l'activité du cisplatine en inhibant la réparation par excision de nucléotides, *via* son interférence dans les interactions entre XPA et ERCCI (protéines de réparation par excision).

¹¹ Prudhomme M. *Curr. Med. Chem. -Anti-Cancer Agents*, **2004**, 4, 435-438.

² Pommier Y. ; Kohn K. W. *Médecine/Sciences*, **2003**, 19, 173-186.

L'un des problèmes majeurs de l'UCN-01 est que, à la différence de son comportement dans les études animales, il se lie fortement chez l'homme à la glycoprotéine acide α -1 (protéine du sérum humain). De plus, son élimination est très lente (environ quatre semaines).

En comparaison avec l'UCN-01, l'ICP-1 est beaucoup moins toxique et ne se lie pas aussi fortement aux protéines du sérum humain. Par contre, il est moins puissant que l'UCN-01. L'ICP-1 inhibe les points de contrôle en S et G2 et augmente l'action d'agents cytotoxiques tel que le cisplatine uniquement dans les cellules qui ont le gène *p53* muté.

Le **CEP-3891** est un inhibiteur puissant ($IC_{50} = 4$ nM)^{11,12,13} et sélectif de Chk1. Il accélère la fragmentation nucléaire mitotique en réponse aux dommages de l'ADN par radiation ionisante. Cette fragmentation est le résultat d'une déficience dans la ségrégation des chromosomes lors de la première mitose des cellules irradiées, celle-ci étant due soit à une inhibition des points de contrôle en G2 et S en présence de CEP-3891, soit à l'arrêt prolongé en G2 et S en l'absence de CEP-3891. Le CEP-3891 augmente globalement la mort cellulaire après radiations ionisantes.

Le **SB218078** a été identifié comme inhibiteur de la protéine Chk1 lors d'un screening sur plusieurs sérine/thréonine kinases. C'est un inhibiteur puissant de la Chk1 ($IC_{50} = 15$ nM) et plus modéré de la CDK1 ($IC_{50} = 250$ nM) avec une meilleure sélectivité d'inhibition de Chk1/CDK1 que la staurosporine ou l'UCN-01. A de faibles concentrations (de l'ordre du nanomolaire), le SB218078 inhibe l'arrêt en G2 induit par le topotécan ou des radiations ionisantes. A des concentrations supérieures à 10 μ M il induit l'arrêt en G2 probablement à cause de l'inhibition de la kinase CDK1.¹⁰

Le **Gö6976** a été le premier inhibiteur identifié de la PKC. C'est aussi un inhibiteur puissant des points de contrôle en G2 et S et il augmente l'efficacité d'agents endommageant l'ADN dans les cellules tumorales.¹⁴ En comparaison avec l'UCN-01, le Gö6976 est presque aussi puissant mais moins toxique et abroge l'arrêt en G2 à des concentrations beaucoup plus basses en présence de sérum humain. Il apparaît donc plus intéressant que l'UCN-01 pour une étude clinique pour sensibiliser les cellules tumorales aux agents endommageant l'ADN.

² Pommier Y. ; Kohn K. W. *Médecine/Sciences*, **2003**, 19, 173-186.

¹⁰ Anderson H. J. ; Andersen R. J. ; Roberge M. *Progress in Cell Cycle Research* (Meijer L. ; Jézéquel A. ; Roberge M. eds.), **2003**, 5, 423-430.

¹¹ Prudhomme M. *Curr. Med. Chem.-Anti-Cancer Agents*, **2004**, 4, 435-438.

¹² Sorensen C. S. ; Syljuansen R. G. ; Falck J. ; Schroeder T. ; Rönstrand L. ; Khanna K. K. ; Zhou B-B. ; Bartek J. ; Lukas J. *Cancer Cell*, **2003**, 3, 247.

¹³ Syljuansen R. G. ; Sorensen C. S. ; Nylansted J. ; Lukas C. ; Lukas J. ; Bartek J. *Cancer Res.*, **2004**, 64, 9035-9040.

¹⁴ Kohn E. A. ; Yoo C. J. ; Eastman A. *Cancer Res.*, **2003**, 63, 31-35.

3. La Wortmannine

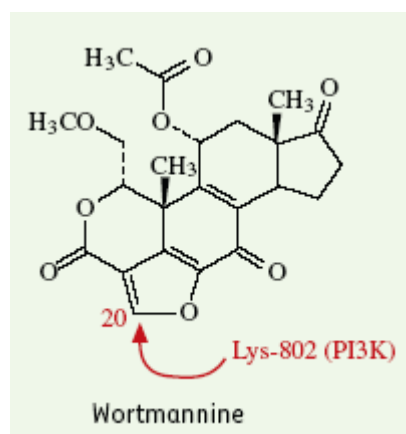


Figure 22 : La Wortmannine.

La wortmannine (**Figure 22**) est un métabolite de champignon qui inhibe irréversiblement les protéines kinases de la famille des Polo-like kinases PIK3 à des concentrations de 1 à 20 nM. A des concentrations plus élevées (0,2-0,5 μ M), la wortmannine inhibe également les protéines kinases DNA-PK (IC_{50} = 16 nM), ATM (IC_{50} = 150 nM), ATR (IC_{50} = 1,8 μ M), rad3 et mTOR.¹⁰ La wortmannine est un inhibiteur des points de contrôle avec une activité puissante à 10 μ M. Des expériences utilisant de la wortmannine radiomarquée suggèrent que le C-20 de la wortmannine participe à la formation d'un adduit covalent avec les résidus lysine essentiels du domaine phosphotransférase de la PIK3. La wortmannine bloque la stabilisation de p53 et l'arrêt de la réplication de l'ADN (phase S). Les effets inhibiteurs de la wortmannine sur les kinases de la famille de la PIK3 peuvent expliquer ses effets inhibiteurs sur la réparation des coupures double brin de l'ADN, la suppression du point de contrôle de la phase S et l'inhibition de la phosphorylation de la RPA2 en réponse aux coupures de l'ADN.² La wortmannine a été reconnue comme un radiosensibilisateur puissant. Elle présente également un effet synergique avec le chlorambucil et l'étoposide indépendamment du statut

² Pommier Y. ; Kohn K. W. ; *Médecine/Sciences*, **2003**, 19, 173-186.

¹⁰ Anderson H. J. ; Andersen R. J. ; Roberge M. *Progress in Cell Cycle Research* (Meijer L. ; Jézéquel A. ; Roberge M. eds.), **2003**, 5, 423-430.

de la p53. Cependant, la wortmannine a une faible activité antitumorale dans le modèle animal et sa réactivité chimique l'exclut de l'usage clinique.²

4. L'hyménialdisine et ses dérivés

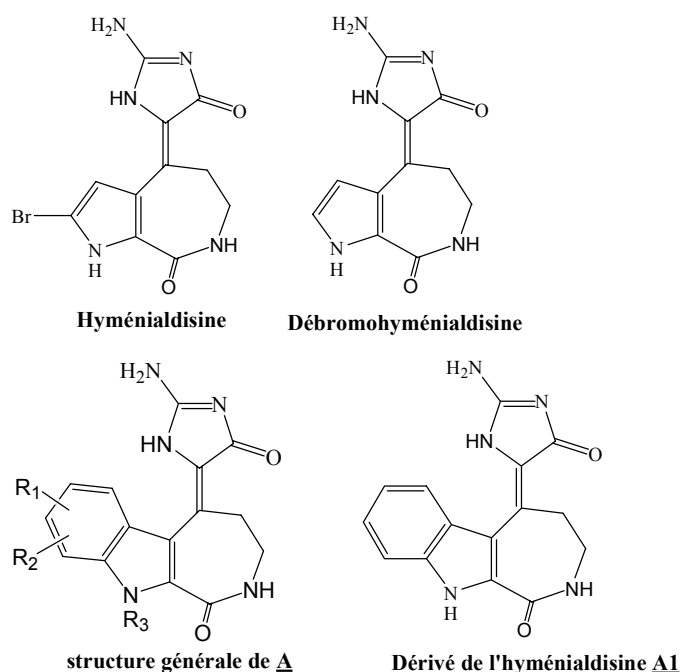


Figure 23 : Structures de l'Hyménialdisine et de ses dérivés synthétiques.

L'hyménialdisine et la débromohyménialdisine¹⁰ ont été isolés d'une éponge marine (Figure 23). L'hyménialdisine inhibe les points de contrôle avec une IC₅₀ de 6 µM, et la débromohyménialdisine avec une IC₅₀ de 8 µM. Ces composés inhibent les kinases Chk1 et Chk2 *in vitro* avec une IC₅₀ de 3 µM, mais pas l'ATM et l'ATR. Par ailleurs, l'hyménialdisine est, *in vitro* un inhibiteur puissant (nanomolaire) de plusieurs autres kinases telles que MEK-1, GSK-3β, CDK1 et CK1. Paradoxalement, alors que ces composés inhibent la CDK1 à des concentrations nanomolaires, ils induisent à des concentrations micromolaires une forte activation de la CDK1 dans les cellules bloquées en G2.

Lors d'une étude récente, un dérivé de l'hyménialdisine, de la famille des indoloazépines, a été synthétisé (composé **A1**).^{15,16} Ce composé est un inhibiteur puissant de plusieurs protéines

¹⁰ Anderson H. J. ; Andersen R. J. ; Roberge M. *Progress in Cell Cycle Research* (Meijer L. ; Jézéquel A. ; Roberge M. eds.), **2003**, 5, 423-430.

¹⁵ Sharma V. ; Tepe J. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 4319-4321.

kinases dont la Chk1 ($IC_{50} = 237$ nM) et la Chk2 ($IC_{50} = 8$ nM). A la différence de l'hyménialdisine, le composé **A1** est relativement sélectif des checkpoints kinases (**Tableau 2**) mis à part de la MEK-1 pour laquelle son IC_{50} est de 89 nM.

Kinases	Composé A1	hyménialdisine	débromohyménialdisine
PKC α	2539	700	n.d.
PKC β II	3381	1200	n.d.
Chk1	237	3000	3000
Chk2	8	3000	3500

Tableau 2 : Valeurs des IC_{50} (nM).

Le composé **A1** est un inhibiteur puissant des checkpoint kinases, plus puissant que les composés naturels. Il est aussi plus sélectif et plus particulièrement sélectif de la Chk2.

5. Le PD0166285

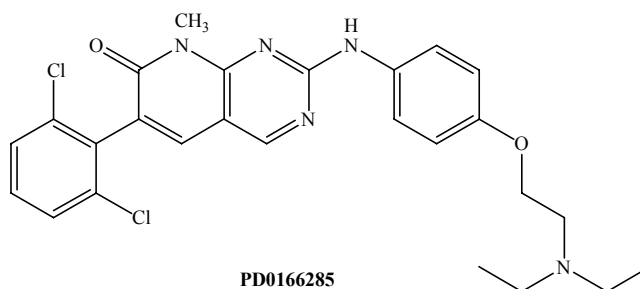


Figure 24 : Le PD0166285.

Le **PD0166285** a été identifié au cours d'un screening sur une librairie de produits susceptibles d'inhiber la Wee1 (**Figure 24**). C'est en effet un inhibiteur puissant de la Wee1 ($IC_{50} = 24$ nM), de la Myt1 ($IC_{50} = 72$ nM) mais moins puissant sur la Chk1 ($IC_{50} = 3,4$ μ M). Il inhibe aussi des tyrosines kinases telles que la Src, le FGFR et le PDGFR. Le PD0166285 inhibe le point de contrôle en G2 avec une IC_{50} de 0,25 μ M lorsque son action est couplée avec celle de radiations ionisantes. Il inhibe la phosphorylation des résidus tyrosine-15 et thréonine-14 de la CDK1 dans les cellules irradiées. Le PD0166285 est incapable d'induire l'arrêt en G2 dans les cellules qui expriment la p53.¹⁰

¹⁶ Tepe J. J. US0235820 (2004) CA 142:6534.

¹⁰ Anderson H. J. ; Andersen R. J. ; Roberge M. *Progress in Cell Cycle Research* (Meijer L. ; Jézéquel A. ; Roberge M. eds.), **2003**, 5, 423-430.

6. La 13-hydroxy-15-oxoapatline

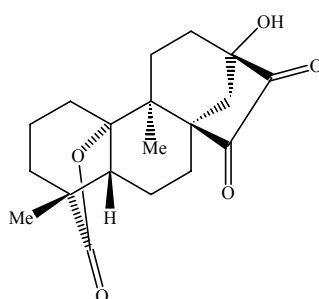


Figure 25 : La 13-Hydroxy-15-oxoapatline.

La 13-hydroxy-15-oxoapatline a été isolée de plantes africaines (**Figure 25**). C'est un inhibiteur modéré des points de contrôle ($IC_{50} = 5-7 \mu M$). Ce n'est pas un inhibiteur de sérine/thréonine kinase et elle n'inhibe pas l'ATM, l'ATR, la Chk1 et la Chk2. Ce n'est pas non plus un inhibiteur de sérine/thréonine phosphatases. Elle n'apparaît pas comme un bon candidat pour la thérapie. Néanmoins, elle est intéressante car elle semble agir par un mécanisme différent des autres inhibiteurs des points de contrôle.¹⁰ Le système α -dicarbonylé la rend réactive aux thiols des résidus cystéines des protéines et semble essentiel pour l'inhibition des points de contrôle.

7. Les aminopurines

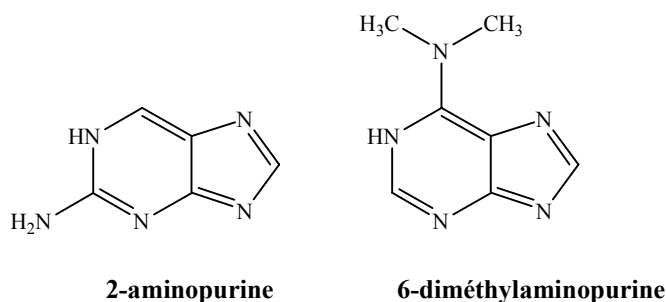


Figure 26 : Les aminopurines.

Les analogues de purines, la 2-aminopurine et la 6-diméthylaminopurine, sont en général des inhibiteurs de protéines kinases et qui inhibent le point de contrôle en G2 à des concentrations millimolaires (**Figure 26**). Leur mécanisme d'inhibition n'a pas encore été décrit.¹⁰

8. La Leptomycine B et l'Amiloride

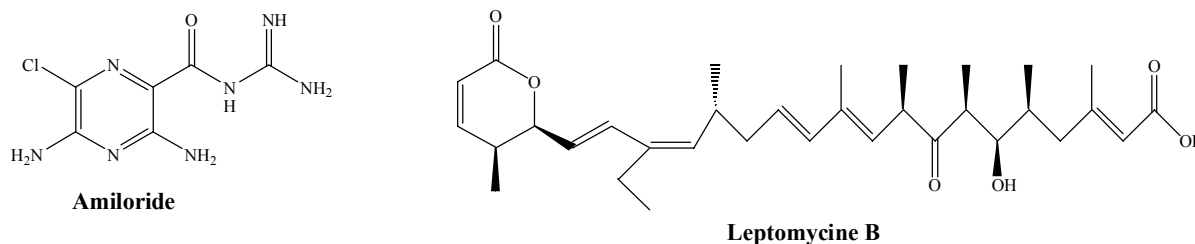


Figure 27 : Structures de la Leptomycine B et de l'Amiloride.

L'amiloride est un inhibiteur des échangeurs Na^+/H^+ dans la membrane plasmique impliqués dans le contrôle du pH cellulaire (**Figure 27**). Une concentration de 200 μM en amiloride réduit considérablement l'arrêt en G2 causé par des radiations ionisantes dans les cellules HL-60. L'amiloride agirait indirectement sur la cascade du point de contrôle en G2 par modification du pH intracellulaire ou de la concentration en ions Ca^{2+} .

La leptomycine B, isolée d'une souche de *Streptomyces*, est un abrogateur très puissant de l'arrêt du cycle cellulaire en G2 induit par des radiations ionisantes dans les cellules MCF-7 dans lesquelles la p53 est inactivée. C'est un inhibiteur hautement spécifique de Crm1 (Chromosome region maintenance 1). Crm1 contrôle la localisation nucléaire de certaines protéines impliquées dans les points de contrôle et le déroulement du cycle cellulaire (cycline B, Cdc25C, BRCA1 et p53).¹⁰

¹⁰ Anderson H. J. ; Andersen R. J. ; Roberge M. *Progress in Cell Cycle Research* (Meijer L. ; Jézéquel A. ; Roberge M. eds.), **2003**, 5, 423-430.

¹⁰ Anderson H. J. ; Andersen R. J. ; Roberge M. *Progress in Cell Cycle Research* (Meijer L. ; Jézéquel A. ; Roberge M. eds.), **2003**, 5, 423-430.

9. L'acide okadaïque, la calyculine et la fostriécine

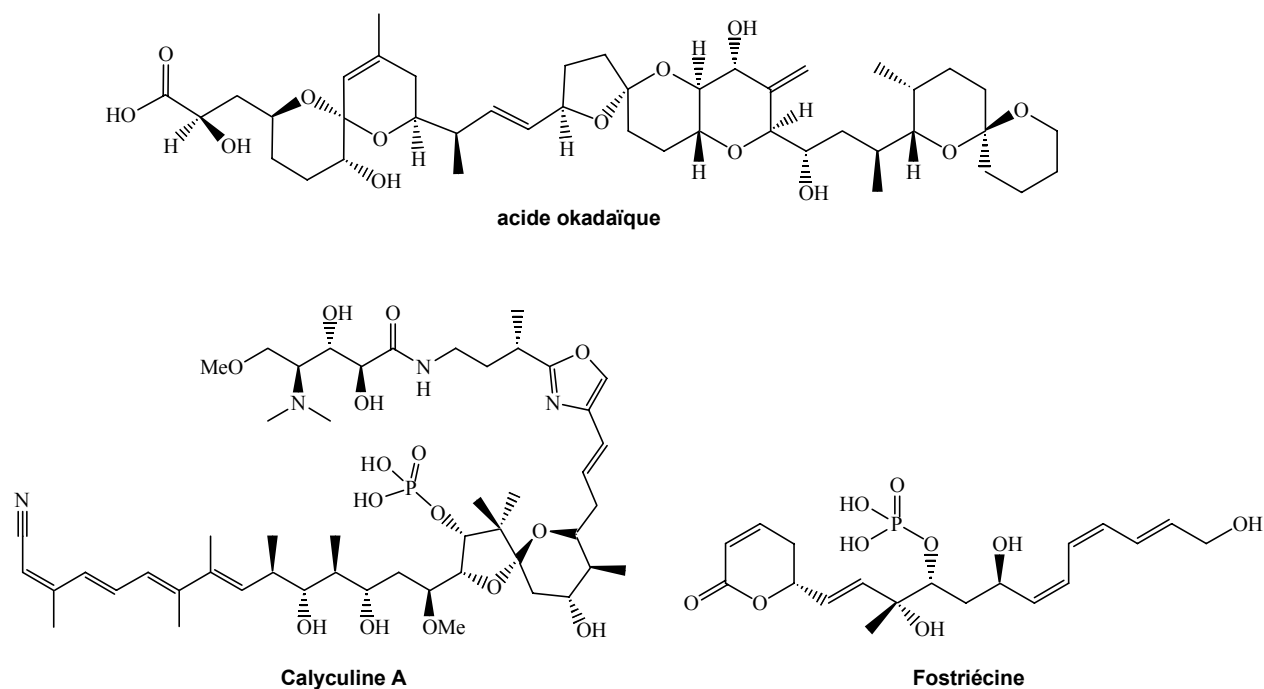


Figure 28 : Structures de l'acide okadaïque, de la calyculine A et de la fostriécine.

L'acide okadaïque et la calyculine A sont des produits d'origine marine (**Figure 28**). La fostriécine a été isolée d'une souche de *Streptomyces*. Ces composés abrogent l'arrêt induit par des lésions de l'ADN, ils accélèrent l'entrée en mitose et affectent la progression du cycle cellulaire à de multiples niveaux. Ce sont des inhibiteurs de sérine/thréonine protéines phosphatases. L'acide okadaïque et la calyculine A inhibent la PP1 et la PP2A. La fostriécine est 40000 fois plus spécifique de la PP2A que de la PP1. Ces composés n'agissent pas sur les sérine/thréonine checkpoint kinases comme la Chk1 et la Chk2. Dans la mesure où la PPA2 inhibe la CDK1/cycline B et la Cdc25C, et active la Wee1, il n'est pas surprenant que des inhibiteurs de la PP2A inhibent le point de contrôle en G2 et forcent les cellules en cours de cycle vers une mitose prématurée.¹⁰

¹⁰ Anderson H. J. ; Andersen R. J. ; Roberge M. *Progress in Cell Cycle Research* (Meijer L. ; Jézéquel A. ; Roberge M. eds.), **2003**, 5, 423-430.

10. La granulaticide et l'isogranulaticide

La granulaticide et l'isogranulaticide, isolés d'extraits de l'acide brésilienne *Didemnum granulatum*, présentent une structure originale contenant un squelette hétérocyclique de type maléimide/carbazole/imidazole (**Figure 29**).

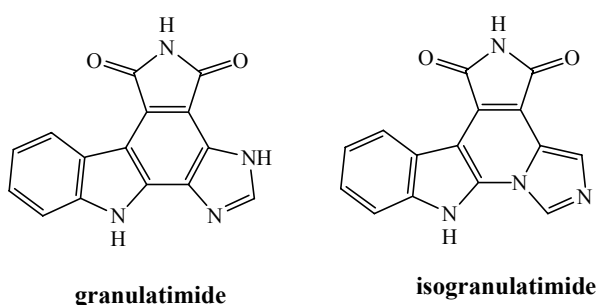


Figure 29 : Structures de la granulaticide et de l'isogranulaticide.

Ces composés ont montré une forte activité inhibitrice sur le point de contrôle en G2 ($IC_{50} = 2-3 \mu M$). Ils inhibent également la prolifération cellulaire avec une IC_{50} 8 fois supérieure. Une étude récente a permis de mieux comprendre le mécanisme d'inhibition de ces composés.¹⁷

Les expériences ont été menées à partir de l'isogranulaticide et d'analogues synthétiques afin de mettre en évidence les éléments structuraux nécessaires à l'inhibition du point de contrôle en G2. L'UCN-01 a été considéré comme produit de comparaison car c'est un inhibiteur puissant du point de contrôle en G2 qui a été largement étudié et qui présente des similitudes structurales avec la granulaticide et l'isogranulaticide.

Une première étude s'est concentrée sur les azotes imidique et imidazolique car ces groupements fonctionnels sont vraisemblablement à l'origine de la spécificité de liaison au site actif des enzymes cibles *via* des liaisons hydrogène.

La 10-méthylisogranulaticide a été synthétisée par alkylation de l'isogranulaticide (**Figure 30**). Ce composé a été testé sur le point de contrôle en G2. Il est 15 fois moins puissant que l'isogranulaticide. On observe un maximum d'inhibition pour une concentration de 200 μM au lieu de 10 μM pour l'isogranulaticide, et une perte de l'activité d'inhibition pour des concentrations $> 200 \mu M$ ce qui indique qu'à ce niveau de concentration le composé est soit toxique pour la cellule soit il inhibe la transition G2/M. Ces résultats suggèrent que le NH imidique participe à une liaison hydrogène avec la cible et/ou qu'une augmentation de l'encombrement stérique dans cette position empêche la liaison avec la cible.

¹⁷ Jiang X. ; Zhao B. ; Britton R. ; Lim L. Y. ; Leong D. ; Sanghera J. S. ; Zhou B-B. S. ; Piers E. ; Andersen R. J. ; Roberge M. *Mol. Cancer. Ther.*, **2004**, 3, 1221-1227.

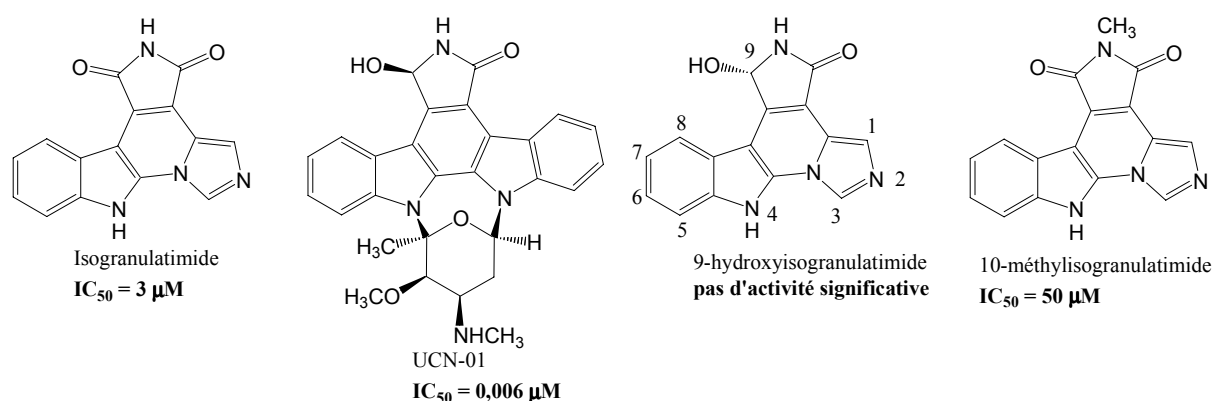


Figure 30 : Structures de l'UCN-01, de l'isogranulatimide et de ses analogues ainsi que leurs valeurs d' IC_{50} sur le point de contrôle en G2.

L'analogue de l'isogranulatimide avec un hydroxylactame a été synthétisé pour comparaison avec l'UCN-01 (**Figure 30**). Cependant la stéréochimie au niveau du C₉ n'est pas la même que dans l'UCN-01. La 9-hydroxyisogranulatimide n'a montré qu'une faible activité inhibitrice du point de contrôle en G2 ce qui semble indiquer que la stéréochimie du carbone 9 n'est pas adaptée ou que le groupement carbonyle dans cette position est requis pour l'activité de l'isogranulatimide. De plus, ce composé est relativement instable ce qui pourrait aussi expliquer son manque d'activité.

Une autre étude a porté sur le cycle imidazole. Une deuxième caractéristique qui distingue l'isogranulatimide de l'UCN-01 est l'azote basique du cycle imidazole. Le doublet libre de cet atome d'azote n'est pas délocalisé, il pourrait donc intervenir pour accepter une liaison hydrogène. De plus, le pK_a de l'imidazole est de 7,00 ce qui suggère la possibilité d'une espèce chargée positivement dans l'environnement physiologique.

A l'état naturel, la granulatimide existe sous deux formes tautomères selon la position (1 ou 3) de l'atome d'azote basique (**Figure 31**). La granulatimide a une activité inhibitrice sur le point de contrôle en G2 de l'ordre du micromolaire. Les isogranulatimides C et A ont été synthétisées avec l'atome d'azote basique en position 1 et 3 respectivement. L'isogranulatimide C a montré une forte activité sur le point de contrôle en G2 alors que son isomère A n'a pas d'activité significative. L'atome d'azote basique en position 1 est donc requis pour l'activité. Dans l'isogranulatimide et l'isogranulatimide B, l'atome d'azote basique est en position 2 et tous deux sont actifs à faibles concentrations (μM). La 17-méthylisogranulatimide possède un atome d'azote basique en position 3 et ce composé est inactif. Ces résultats indiquent qu'un atome d'azote basique en position 1 ou 2 de l'hétérocycle imidazole est nécessaire à l'inhibition du point de contrôle en G2.

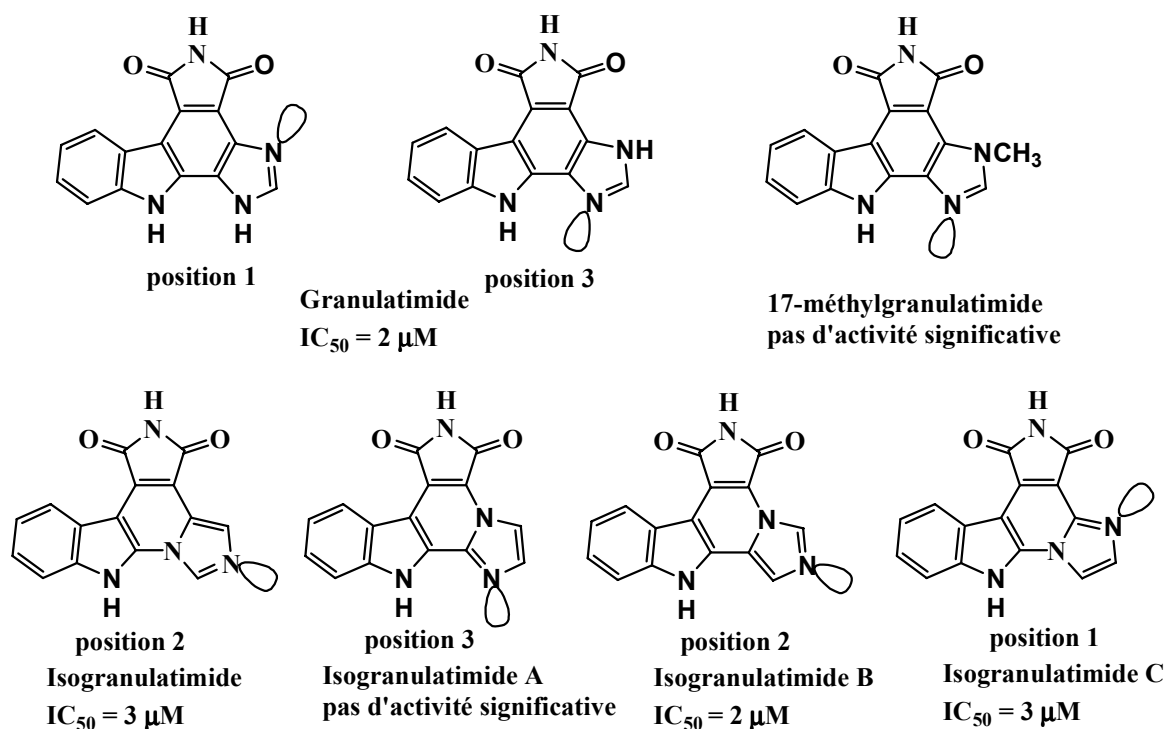


Figure 31 : Structures des formes tautomères de la granulatinimide et de l'isogranulatinimide ainsi que les valeurs d' IC_{50} sur le point de contrôle en G2.

L'inhibition de la protéine kinase Chk1 par l'isogranulatinimide et ses analogues a également été évaluée. En effet, la ressemblance de ces composés avec l'aglycone de l'UCN-01 suggère que l'isogranulatinimide et ses analogues inhibent la Chk1. Pour évaluer la sélectivité d'inhibition de l'isogranulatinimide et de ses analogues, ces composés ont également été testés *in vitro* sur 14 protéines kinases et comparés à l'UCN-01 (**Tableau 3**). Il apparaît que la granulatinimide, l'isogranulatinimide et l'isogranulatinimide C sont de bons inhibiteurs de la Chk1. L'isogranulatinimide n'inhibe aucune des kinases plus efficacement que l'UCN-01, à l'exception de la protéine kinase ADN-dépendante. L'isogranulatinimide est un inhibiteur moins puissant du point de contrôle en G2 et de la Chk1, mais semble être plus sélectif de la Chk1 que l'UCN-01 vis-à-vis d'autres kinases. Notamment, l'isogranulatinimide n'inhibe pas la protéine PKC de façon significative.

Kinases	UCN-01	Isogranulatimide	Granulatimide	Isogranulatimide C	Isogranulatimide B
G2 checkpoint	0,006	3	2	3	2
Chk1	0,007	0,1	0,25	0,65	2,3
CDK1	0,05	10	20	17	0,5
Casein kinase II	50	50	50	>50	50
DNA-dependent-protein kinase	>50	10	>50	>50	10
Extracellular signal-regulated kinase 1	>50	>50	>50	50	10
Glycogen synthase kinase-3 β	0,5	0,5	2	5	0,1
Integrin-linked kinase 1	>50	>50	>50	>50	15
Lymphocyte-specific kinase	0,05	40	2	>50	2
Mitogen-activated protein kinase kinase 1	>50	>50	>50	>50	>50
Pim 1	15	50	>50	>50	50
Protein kinase A	1	>50	>50	>50	>50
p21-activated kinase 4	0,05	>50	>50	>50	>50
Protein kinase C β	<0,001	50	>50	>50	25
Protein B α	0,5	50	>50	>50	50
SRC	15	>50	>50	>50	50

Tableau 3 : Activité inhibitrice (IC₅₀ en μ M) des protéines kinases des isogranulatimides et analogues.

Afin de définir les bases structurales de l'inhibition de la Chk1 par l'isogranulatimide, la structure du complexe entre l'apoenzyme de la Chk1 et l'isogranulatimide a été déterminée par cristallographie aux rayons X et comparée à celle du complexe Chk1/UCN-01 (**Figure 32**).

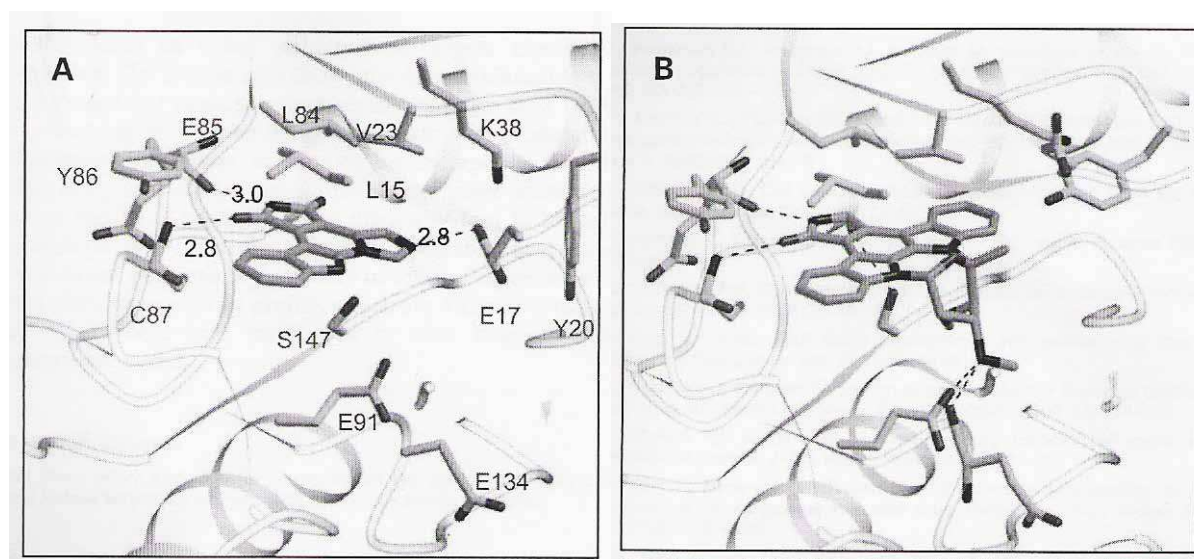


Figure 32 : Liaisons hydrogène entre l'isogranulatimide (A) et l'UCN-01 (B) avec le site actif de la Chk1.

L'isogranulatimide, de même que l'UCN-01, se lie dans la poche de fixation de l'ATP. Le NH du maléimide établit une liaison hydrogène avec l'oxygène du carbonyle du résidu acide glutamique-85, tandis que l'oxygène du groupement carbonyle du maléimide en position 9 accepte une liaison hydrogène du groupement amide du résidu cystéine-87 dans la région du lien. L'interaction entre l'atome d'azote basique en position 15 du noyau imidazole et l'acide carboxylique de la chaîne latérale du résidu Glu17 explique pourquoi l'isogranulatimide ne se fixe que dans une seule orientation. La surface plane hydrophobe de l'isogranulatimide établit de nombreux contacts de Van der Waals favorables avec le squelette et les chaînes latérales des résidus du domaine *N*-terminal de l'enzyme, en particulier avec la Leu15, la Val23, l'Ala36, la Lys38, la Leu84 et la Tyr86.

Si on compare cette structure à celle du complexe Chk1/UCN-01, on peut observer que les deux inhibiteurs établissent des liaisons hydrogène similaires avec les résidus Glu85 et Cys87. Contrairement à l'isogranulatimide, l'UCN-01 interagit avec le résidu Ser147 grâce à son groupement hydroxyle et avec les résidus Glu91 et Glu134 grâce à sa partie sucre.

L'isogranulatimide inhibe vraisemblablement le point de contrôle en G2 par l'intermédiaire de son action inhibitrice de la Chk1. De plus, il a été montré que l'isogranulatimide est un inhibiteur 40 fois moins puissant de la Chk2 et que ce composé n'est pas un inhibiteur des kinases ATM et ATR.

Les résultats de l'étude des structures cristallographiques de deux composés (UCN-01 et isogranulatimide) en complexe avec la Chk1 montrent qu'il existe dans la poche de fixation de l'ATP plusieurs poches hydrophobes et hydrophiles. Par exemple, on note autour de ces composés l'existence de deux poches hydrophile et hydrophobe (**Figure 33**).

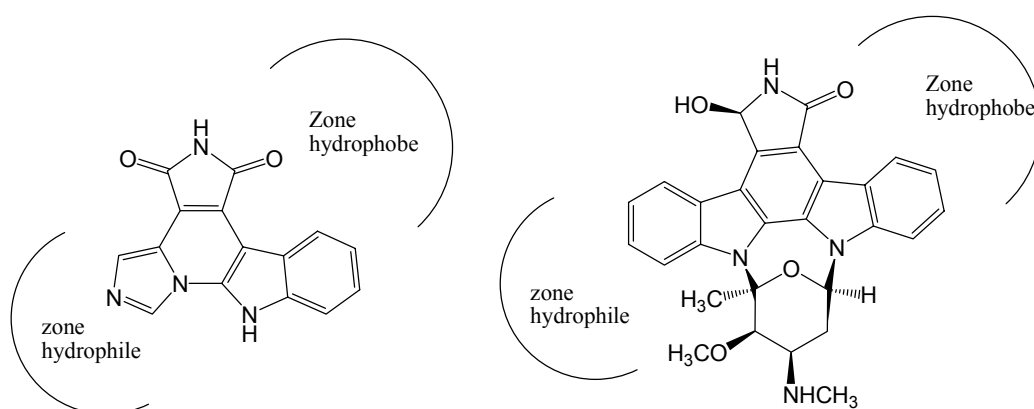


Figure 33 : Poche hydrophobe et hydrophile autour de l'UCN-01 et de l'isogranulatimide dans le site actif de la Chk1.

La connaissance de ces poches est intéressante pour l'élaboration de nouveaux composés susceptibles d'inhiber la Chk1. En effet, on peut envisager des composés qui pourront venir

interagir avec les différentes poches et être davantage stabilisés et donc plus puissants et plus sélectifs.

Les synthèses de plusieurs analogues de la granulaticide sont décrites dans un brevet de 1999.¹⁸ Plusieurs structures de base sont revendiquées (**Figure 34, 35, 36, 37**), W étant un hétérocycle à 5 ou 6 chaînons.

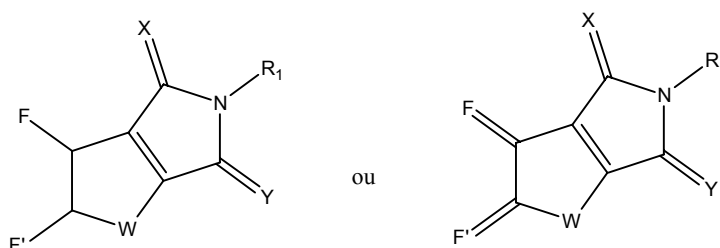


Figure 34 : Formule I.

Un intérêt particulier a été porté par ces auteurs aux composés de formule **I** pour lesquels F et F' sont de type bicyclic aromatique, ce qui conduit à la formule **II** (**Figure 35**).

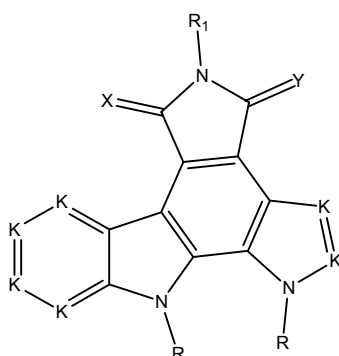


Figure 35 : Formule II.

Les composés de formule **II** peuvent comporter des substituants variés d'où la formule **III** (**Figure 36**).

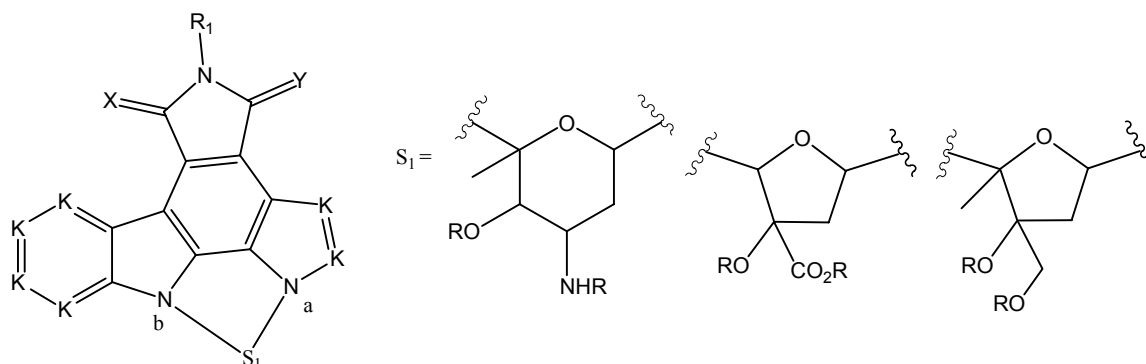


Figure 36 : Formule III.

Les composés de formules **IV** et **V** sont également revendiqués (**Figure 37**).

¹⁸ Andersen R. J. ; Roberge M. ; Sanghera J. ; Keung D. WO9947522 (1999) CA 131:243459.

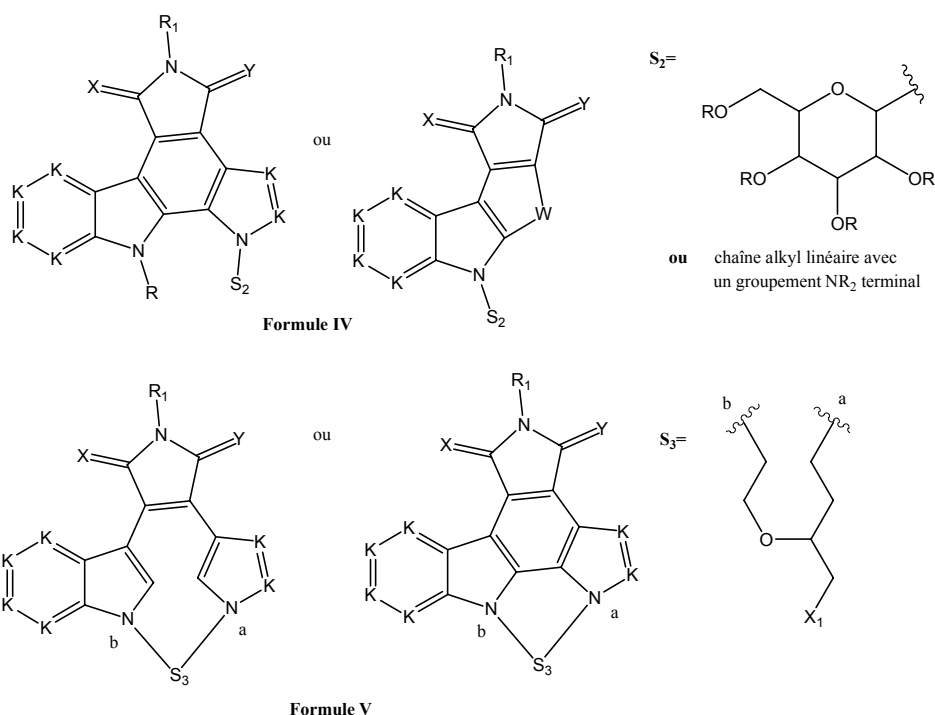


Figure 37 : Structures des formules IV et V.

Le brevet donne plusieurs exemples de synthèse de la granulatimide et d'analogues ainsi que de certains composés de formules III, IV ou V.

- Synthèse de la granulatimide et de l'isogranulatimide à partir du didemnimide A (Figure 38):

Cette synthèse est décrite dans le brevet et s'est inspirée des travaux de Berlinck *et al.*¹⁹

¹⁹ Berlinck R. G. S. ; Britton R. ; Piers E. ; Lim L. ; Roberge M. ; Moreira da Rocha R. ; Andersen R. J. *J. Org. Chem.*, **1998**, 63, 9850-9856.

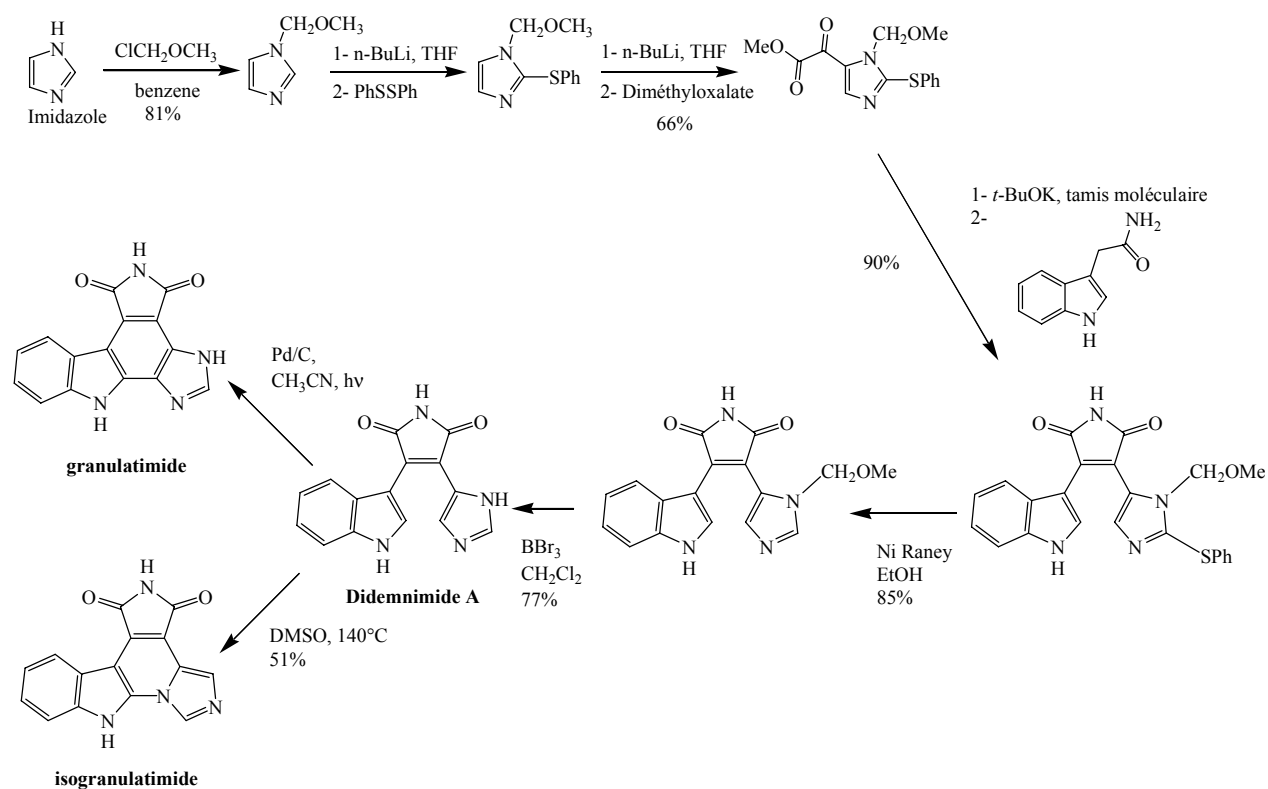


Figure 38 : Synthèse de la granulatinimide et de l'isogranulatinimide.

- Synthèse des isogranulatinimide A et B ²⁰ (Figure 39):

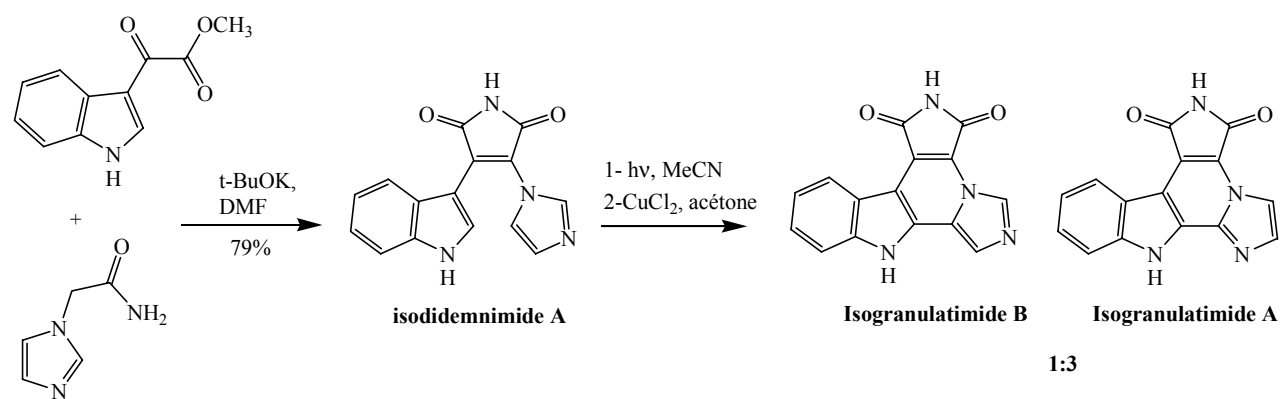


Figure 39 : Synthèse de l'isogranulatinimide A et B.

- Synthèse de l'isogranulatinimide C (Figure 40):

²⁰ Piers E. ; Britton R. ; Andersen R. J. *J. Org. Chem.*, **2000**, 65, 530-535.

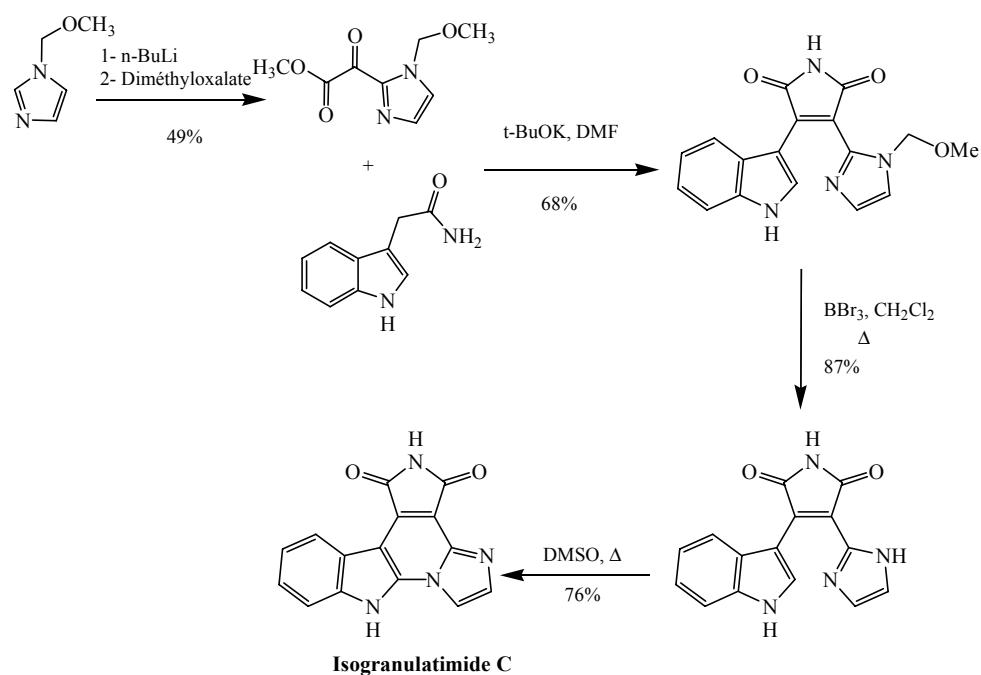


Figure 40 : Synthèse de l'isogranulatimide C.

- Synthèse de la 17-méthylgranulatimide ou cyclodidemnimide C²⁰:

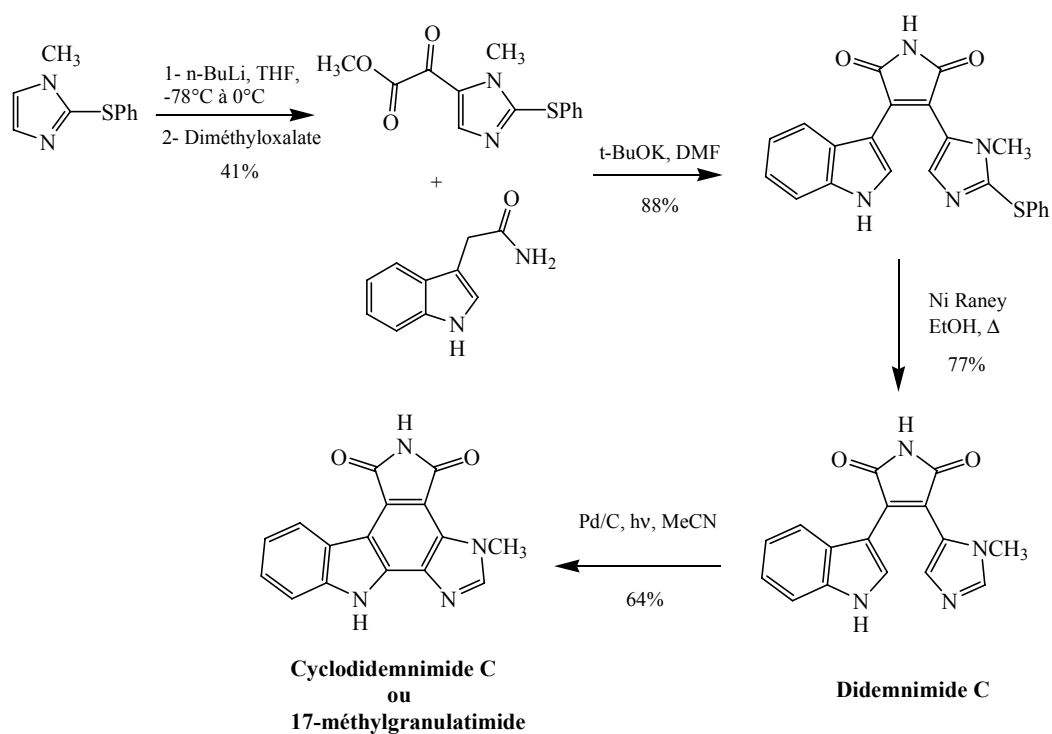


Figure 41 : Synthèse de la 17-méthylgranulatimide.

Sur l'ensemble des composés dont la synthèse est décrite dans le brevet, seuls les analogues de la granulatifimide ainsi que les intermédiaires réactionnels (didemnimides) ont été testés sur

²⁰ Piers E. ; Britton R. ; Andersen R. J. *J. Org. Chem.*, **2000**, 65, 530-535.

le point de contrôle en G2 (**Tableau 4**). Nous avons également reporté à titre de comparaison les valeurs d'IC₅₀ sur la Chk1, déjà décrites.¹⁷

¹⁷ Jiang X. ; Zhao B. ; Britton R. ; Lim L. Y. ; Leong D. ; Sanghera J. S. ; Zhou B-B. S. ; Piers E. ; Andersen R. J. ; Roberge M. *Mol. Cancer. Ther.*, **2004**, 3, 1221-1227.

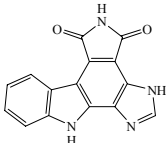
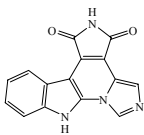
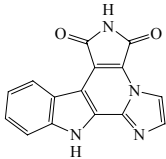
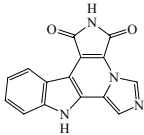
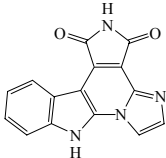
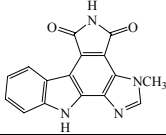
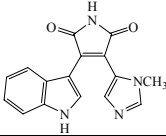
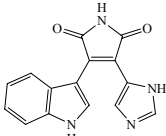
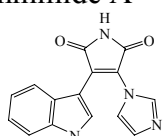
Composés	G2	Chk1
Granulatimide 	1,3	2
Isogranulatimide 	1,8	3
Isogranulatimide A 	> 100	Pas d'activité significative
Isogranulatimide B 	1	2
Isogranulatimide C 	6	3
Cyclodidemnimide C (17-méthylgranulatimide) 	Inactif	Inactif
Didemnimide C 	Inactif	n.d.
Didemnimide A 	Inactif	n.d.
Isodidemnimide A 	Inactif	n.d.

Tableau 4 : Valeurs d'IC₅₀ sur le point de contrôle en G2 et sur la Chk1 (μM).

Les résultats démontrent que lorsque la granulatimide et ses dérivés sont actifs sur le point de contrôle en G2, ils le sont aussi sur la Chk1 avec des valeurs similaires. Par contre, on note que toutes les formes ouvertes de type didemnimide sont inactives.

D'autres composés apparaissent dans le brevet dont les résultats des tests sur le point de contrôle en G2 ne sont pas décrits. Nous n'exposerons que les structures de ces composés et leur voie d'accès.

- Exemple de composé de la Formule III (Figure 42):

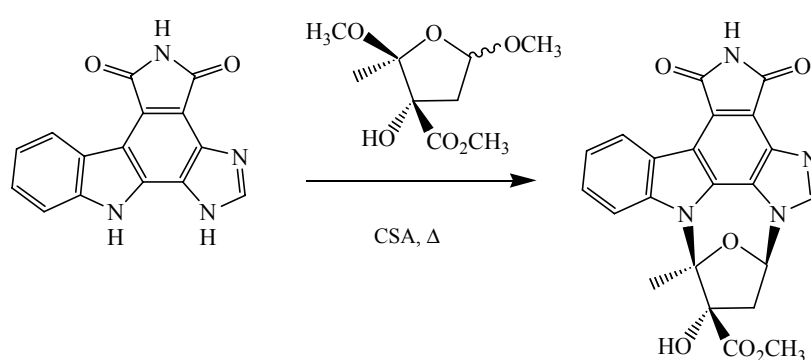


Figure 42 : Synthèse d'un exemple pour la Formule III.

Des dérivés de la granulatimide analogues de la staurosporine sont également décrits (Figure 43).

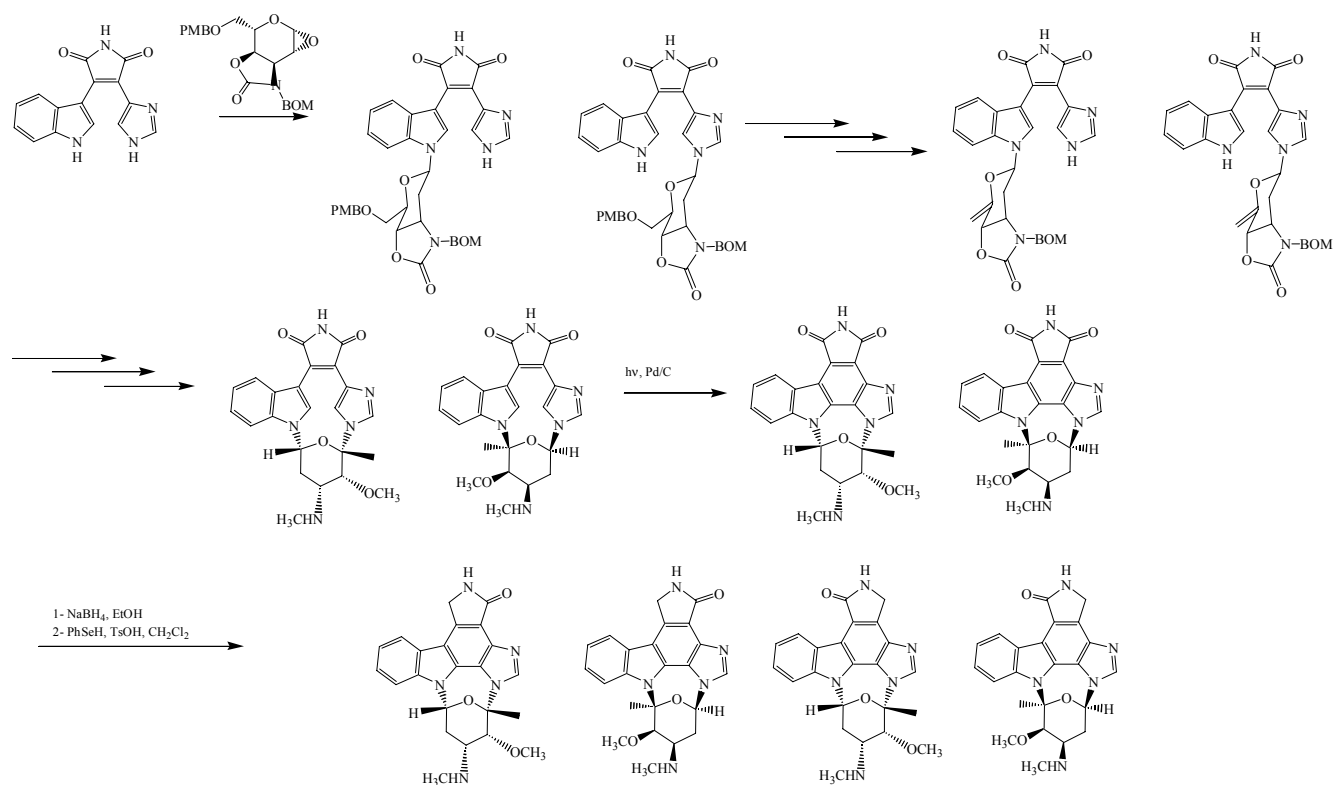


Figure 43 : Synthèse d'analogues de la staurosporine de Formule III.

- Synthèse de dérivés de Formule IV et V :

Les exemples des composés de cette série ont une analogie avec la rébeccamycine (Figure 44).

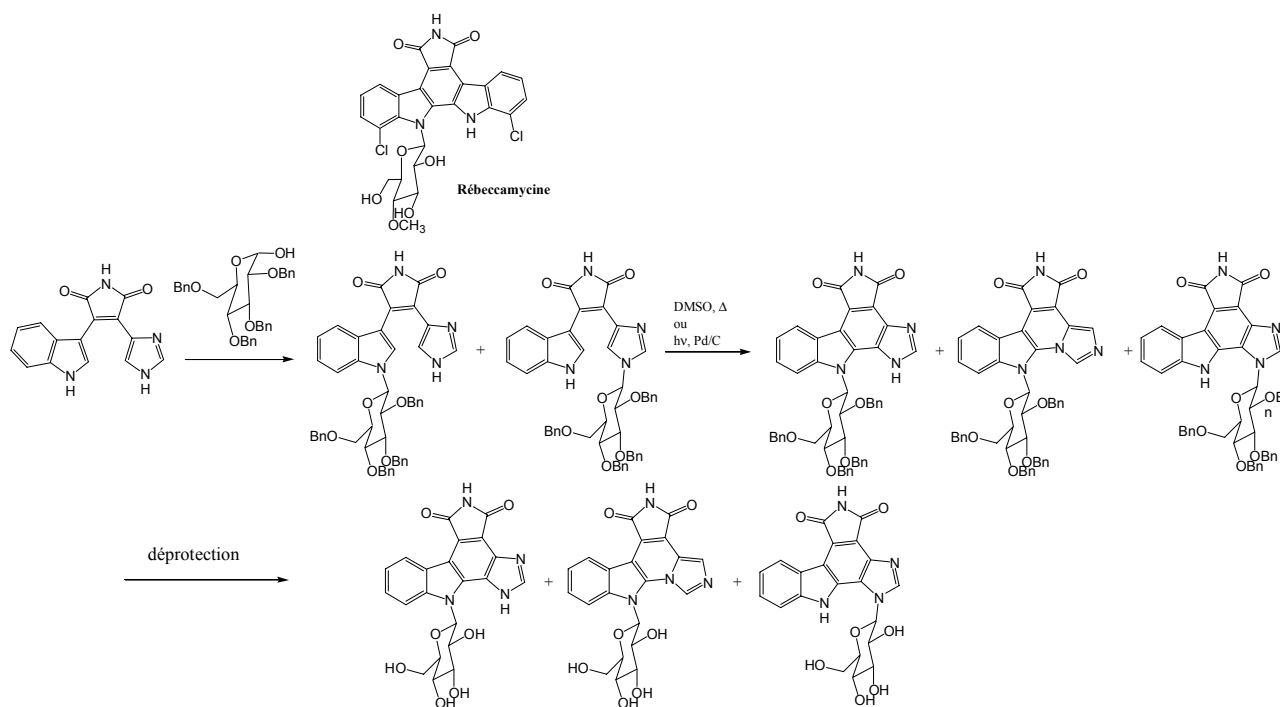


Figure 44 : Synthèse d'analogues de la rébeccamycine de Formule IV.

On trouve également un exemple de synthèse de composés de formule **V** présentant des chaînes macrocycliques comme substituants des NH indolique/imidazolique (**Figure 45**).

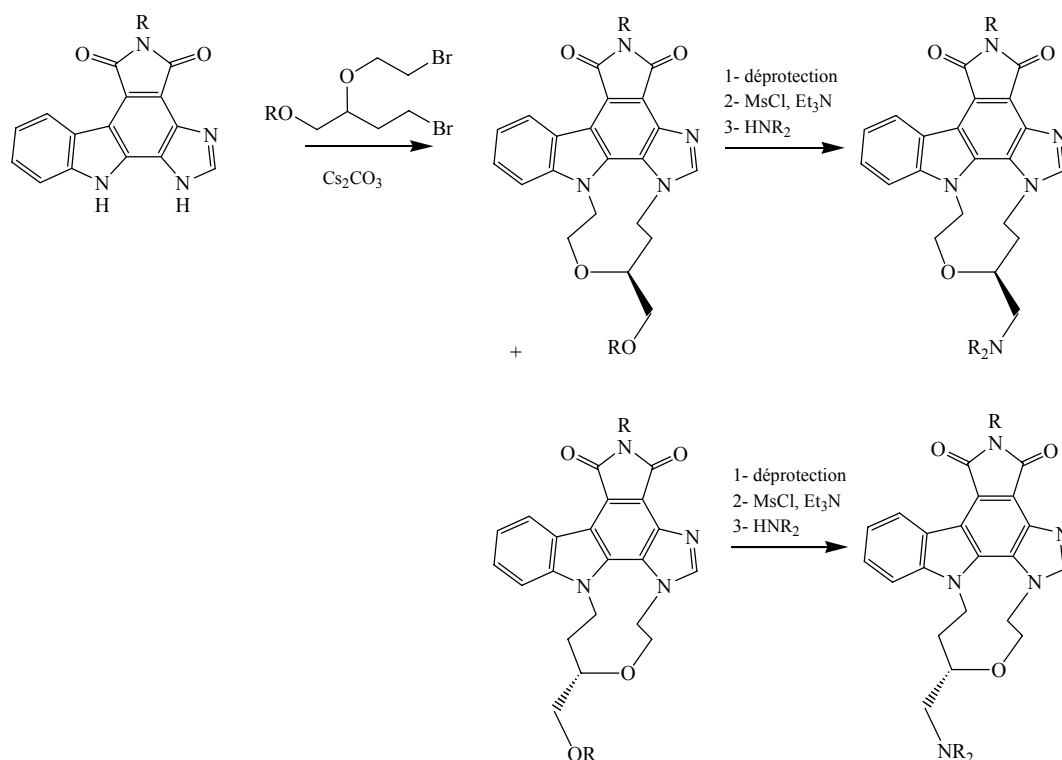


Figure 45 : Synthèse de composés de Formule V.

B. Les nouveaux inhibiteurs de la Chk1

Plusieurs brevets récents décrivent la synthèse de nouveaux composés inhibiteurs de la Chk1 ou inhibiteurs potentiels du point de contrôle en G2 (et donc peut être de la Chk1).

Deux catégories de composés apparaissent dans cette partie : les composés qui ont été testés sur la Chk1 et ceux qui ont été décrits comme des inhibiteurs potentiels de la Chk1 et dont les activités inhibitrices de cette enzyme ne sont pas connues.

1. La famille des pyrazoles

Plusieurs brevets décrivent des composés dont la structure générale est de type pyrazole (**Figure 46**).

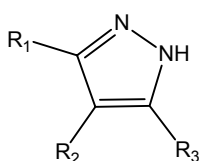


Figure 46 : Structure générale des pyrazoles.

a) Les aminopyrazoles

Les aminopyrazoles peuvent moduler l'activité des CDKs. Reich et Wallace²¹ ont revendiqué une première famille d'aminopyrazoles. Ces composés ont été testés sur des complexes CDK/cycline. Certains ont également été testés sur la protéine kinase Chk1 et sur le récepteur de facteur de croissance VEGFR. En ce qui concerne la Chk1, quatre composés ont été testés (Figure 47 et Tableau 5).

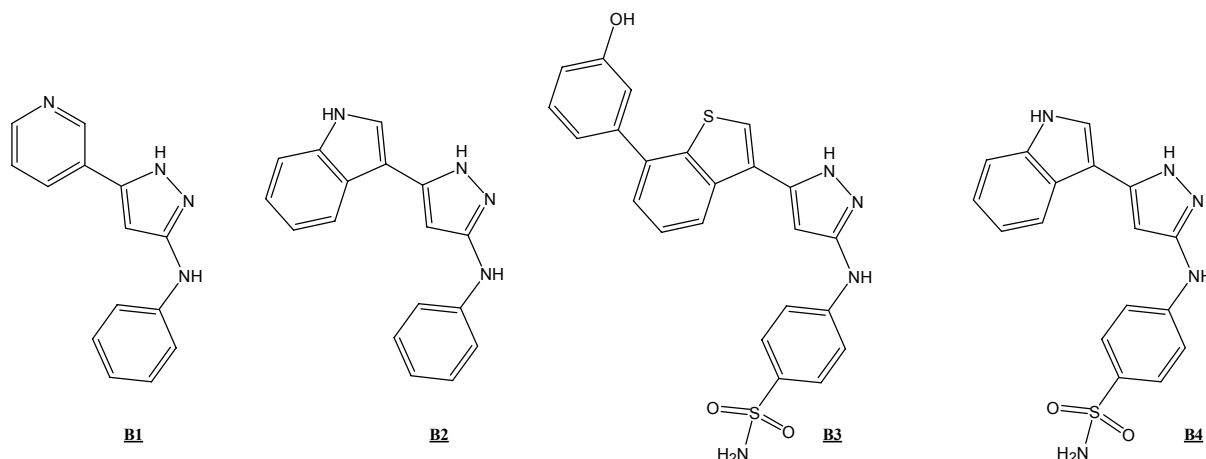


Figure 47 : Structures des aminopyrazoles testés sur la Chk1.

Composés	K _i CDK4/D	K _i CDK2/A	K _i Chk1 ou % d'inhibition
<u>B1</u>	59	61	1,5
<u>B2</u>	12	15	18
<u>B3</u>	3,3	2,7	8 % à 10 μ M
<u>B4</u>	12	0,39	1,8

Tableau 5 : K_i en μ M ou le % d'inhibition.

Le groupe pharmaceutique Agouron s'est également intéressé à la synthèse de plusieurs aminopyrazoles différemment substitués.²²

L'aminopyrazole peut être substitué par différents groupements (R₁) de type benzylamine, pyridine, ou thiazole (Figure 48).

²¹ Reich S. H. ; Wallace M.B. US0006952 (2002) CA 135:331420.

²² Jonhson M. D. ; Teng M. ; Zhu J. WO05009435 (2005) CA 142:198068.

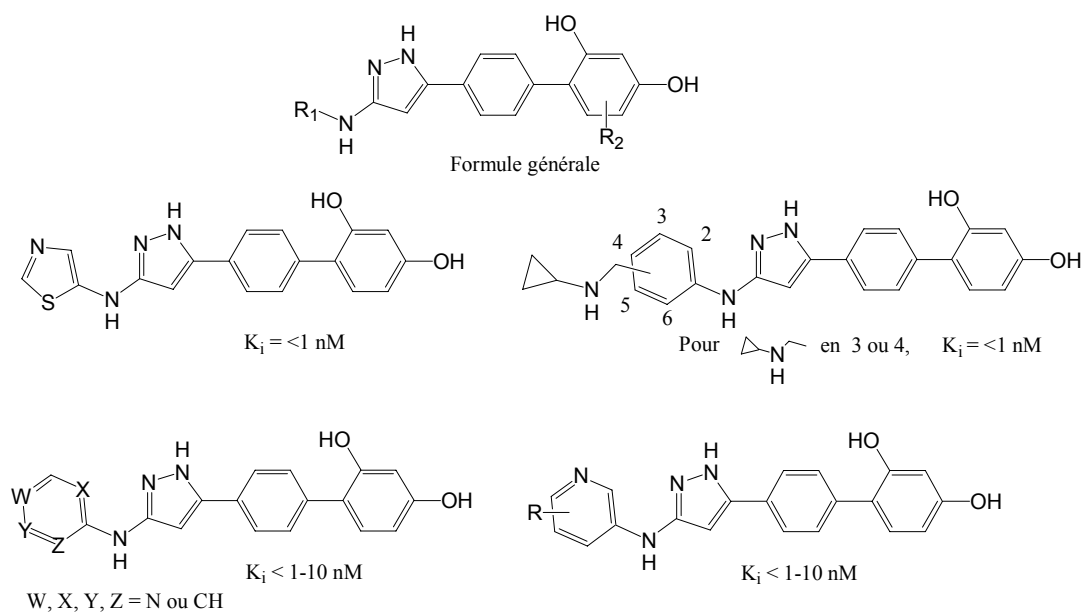


Figure 48 : Inhibiteurs de la Chk1 de type aminopyrazole (K_i en nM).

Les K_i sur la Chk1 de plusieurs des aminopyrazoles synthétisés ont été déterminés. Les valeurs des K_i pour les inhibiteurs les plus puissants sont inférieures à 1 nM.

La compagnie Bristol-Myers Squibb²³ a décrit plusieurs aminopyrazoles, inhibiteurs de la protéine kinase p38 et potentiellement inhibiteurs de la Chk1 (**Figure 49**).

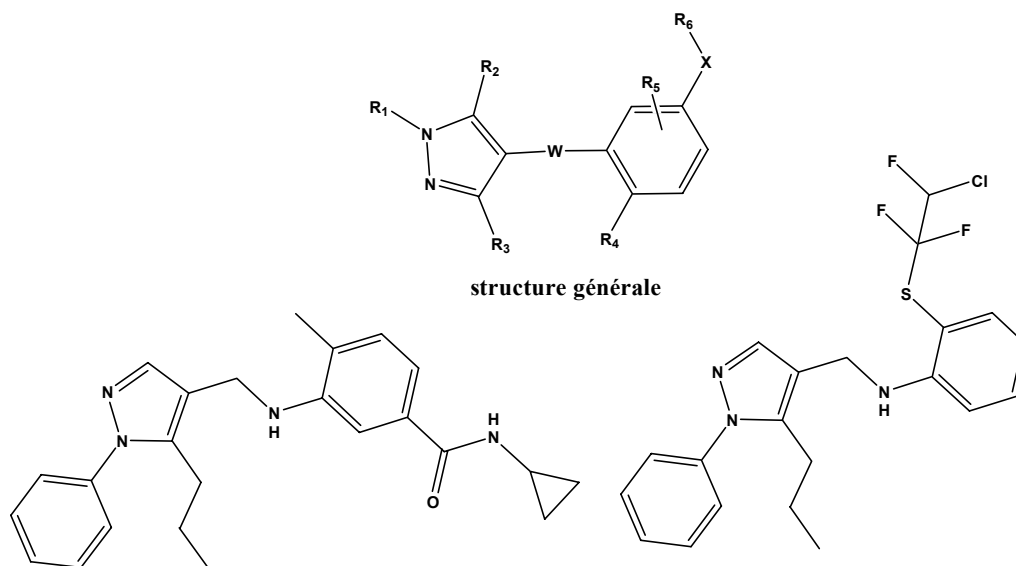


Figure 49 : Structure générale revendiquée par La compagnie Bristol-Myers Squibb et deux exemples, inhibiteurs potentiels de la Chk1.

²³ Dyckman A. J. ; Das J. ; Leftheris K. ; Liu C. ; Moquin R. V. ; Wroblewski S. T. US0248853 (**2004**) CA 141:424182.

b) Les inhibiteurs de kinases polycycliques pyrazoliques

Les composés dont la formule générale est indiquée ci-dessous sont connus comme inhibiteurs de protéines kinases.

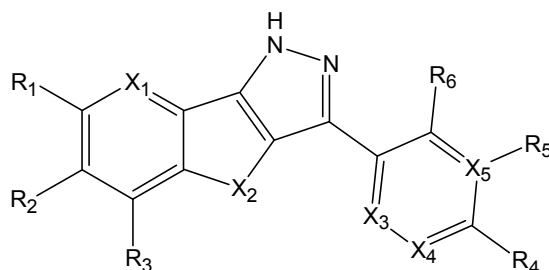


Figure 50 : Structure de la formule générale.

Tong *et al.* ont décrit la synthèse de pyrazoles tri- et tétra-cycliques (**Figure 51**) ainsi que les résultats des tests sur la Chk1.²⁴

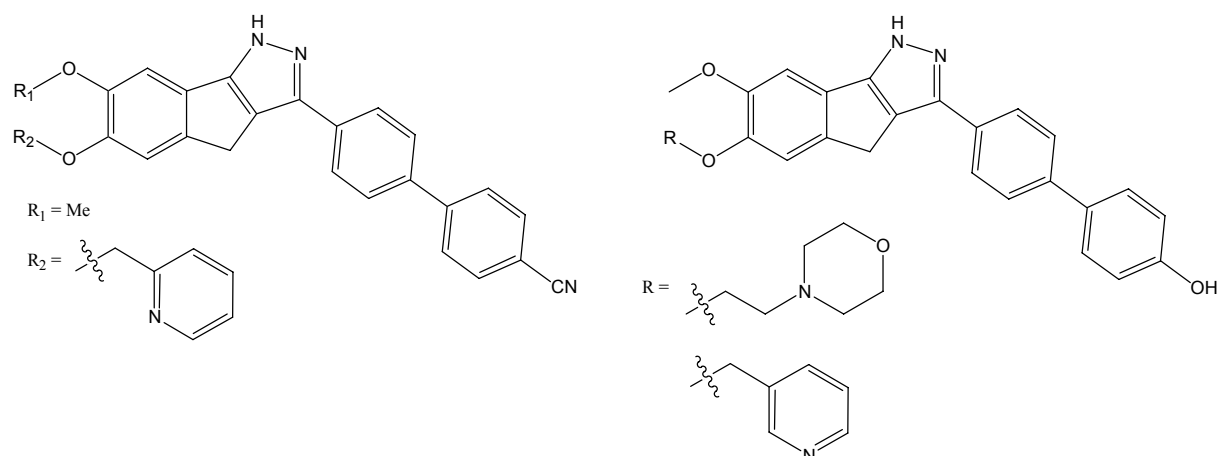


Figure 51 : Quelques exemples d'inhibiteurs de la Chk1 décrits par Tong *et al.*

Les tests ont été effectués à partir d'une Chk1 recombinante comprenant les résidus aminoacides 1 à 289 ainsi qu'un groupe polyhistidine dans la partie C-terminale. Les composés testés inhibent la Chk1 avec des IC₅₀ comprises entre 0,1 mM et 0,1 nM.

Comme inhibiteurs potentiels de la Chk1, on remarque des structures de type bicyclo-pyrazole décrits par Fancelli *et al.*²⁵ (**Figure 52**).

²⁴ Tong Y. ; Claiborne A. K. ; Li G. ; Lin N-H. ; Sham H. L. ; Sowin T. J. ; Tao Z-F. US0259904 (**2004**) CA 141:277618.

²⁵ Fancelli D. ; Pittala V. ; Varasi M. US0171357 (**2003**) CA 136:183816.

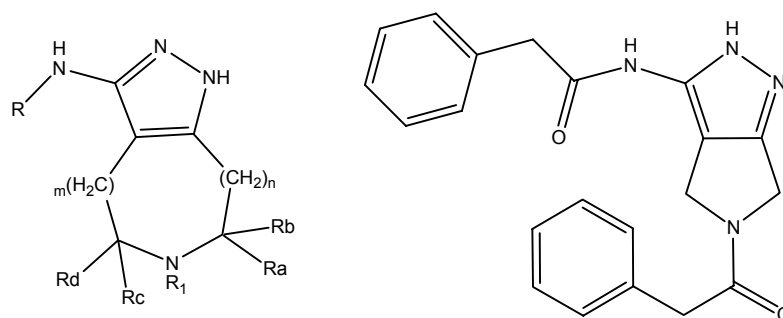


Figure 52 : Formule générale et un exemple d'inhibiteurs potentiels de la Chk1.

c) Les dérivés pyrazoliques

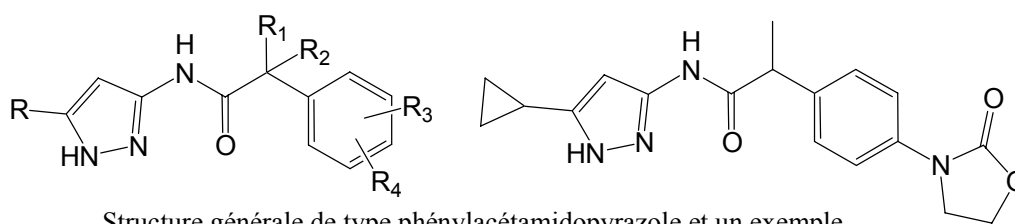
Tous les composés apparaissant dans cette partie ne sont décrits qu'en tant qu'inhibiteurs possibles de la Chk1, bien qu'aucun test n'ait été décrit.

Parmi les dérivés pyrazoliques, des structures de type phénylacétamidopyrazole²⁶, des pyrazoles différemment substitués décrits par Bergmanis *et al.*²⁷, ainsi que des dérivés de type indolopyrazole²⁸ ont également été répertoriés (**Figure 53**).

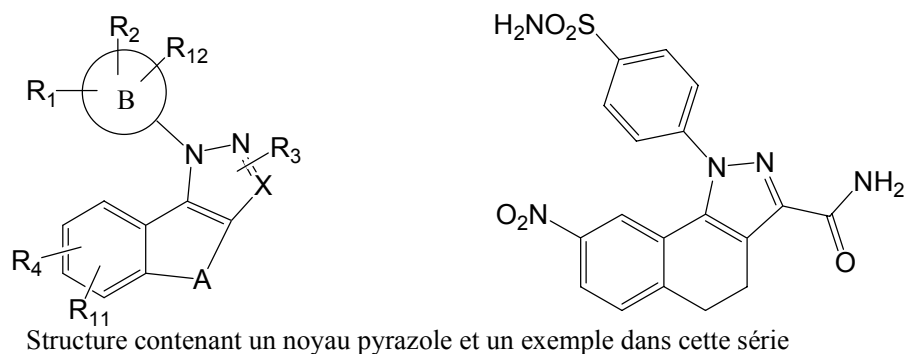
²⁶ Pevarello P. ; Orsini P. ; Traquandi G. ; Brasca G. ; Amici R. ; Villa M. ; Piutti C. ; Varasi M. ; Longo A. US0019046 (**2004**) CA 137:47193.

²⁷ Bergmanis A. A. ; Clare M. ; Crich J. Z. ; Geng L. ; Hagen T. J. ; Hanson G. J. ; Houdek S. ; Huang H. ; Iula D. M. ; Koszyk F. J. ; Liao S. ; Molher S. B. ; Nguyen M. ; Partis R. A. ; Stealey M. A. ; Tollefson M. B. ; Weier R. M. ; Xu X. ; Bonafoux D. ; Fletcher T. R. ; Hamper B. C. ; Lennon P. J. ; Liao S. ; Metz S. ; Oburn D. S. ; Owen T. J. ; Scates A. M. ; Vazquez M. L. ; Wolfson S. G. US0110741 (**2004**) CA 138:271675.

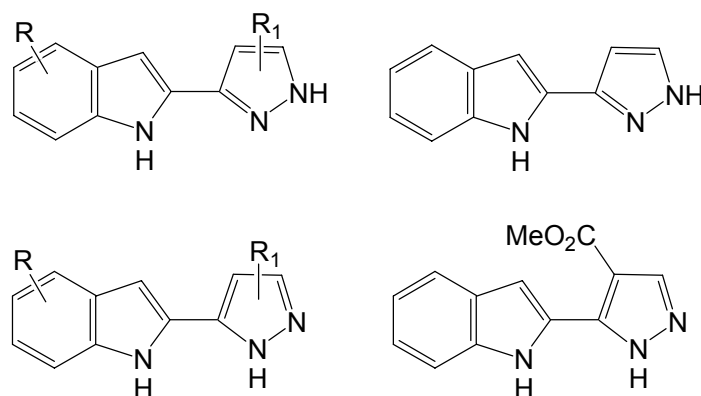
²⁸ Berta D. G. ; Forte B. ; Mantegani S. ; Varasi M. ; Vianello P. US0032869 (**2005**) CA 142:134591.



Structure générale de type phénylacétamidopyrazole et un exemple



Structure contenant un noyau pyrazole et un exemple dans cette série



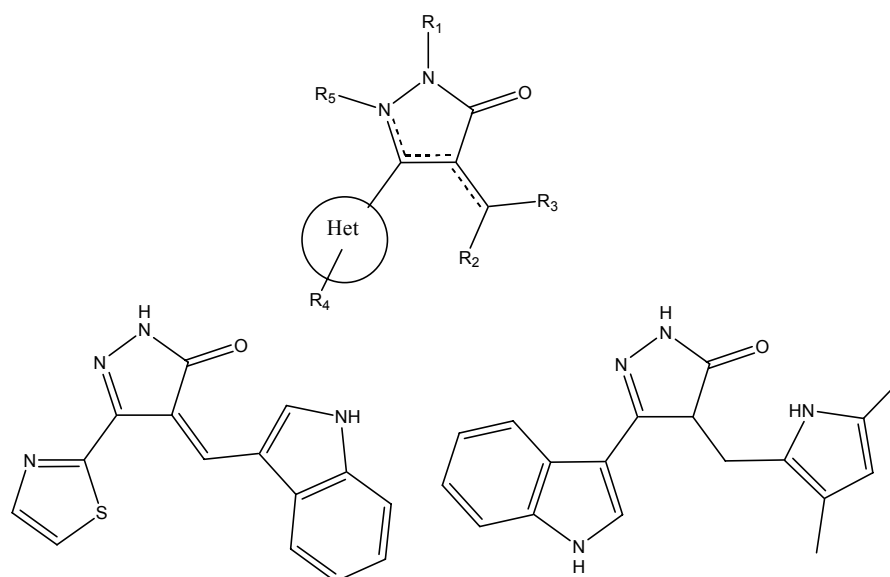
Structures générales de type indolopyrazole et deux exemples

Figure 53 : Plusieurs structures de dérivés pyrazoliques, inhibiteurs potentiels de la Chk1.

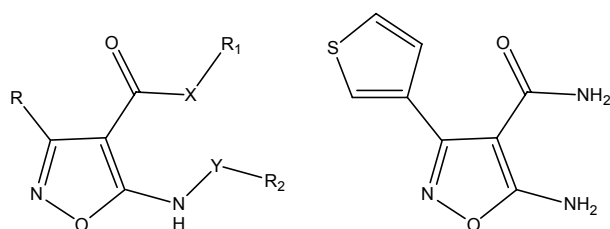
On note également des structures de type pyrazolone²⁹ et oxazole.³⁰

²⁹ Singh J. ; Tripathy R. US0162775 (2003) CA 134:340503.

³⁰ Cavicchioli M. ; Pevarello P. ; Salom B. ; Vulpetti A. US0059657 (2005) CA 138:187773.



structure générale des pyrazolones et exemples



structure générale oxazole et exemple

Figure 54 : Structures de type oxazole et pyrazolone et quelques exemples, inhibiteurs potentiels de la Chk1.

Enfin, des dérivés de type chromane sont à classer dans cette catégorie d'inhibiteurs potentiels de la Chk1 (**Figure 55**).³¹

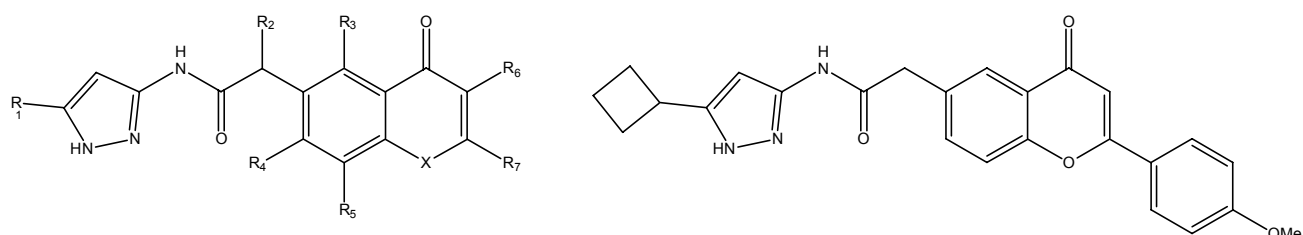


Figure 55 : Structures des dérivés de type chromane et un exemple, inhibiteurs potentiels de la Chk1.

³¹ Traquiandi G. ; Brasca M. G. ; Orsini P. ; Piutti C. ; Vulpetti A. ; Pevarello P. US0116497 (**2004**) CA 137:232645.

2. Les thiazoles

Chu et collaborateurs³² ont décrit la synthèse de diaminothiazoles (**Figure 56**). Ces composés sont susceptibles de moduler l'activité de plusieurs protéines kinases telles que VEGF-R, FGF-R, CDKs, TEK, Chk1, LCK et FAK.

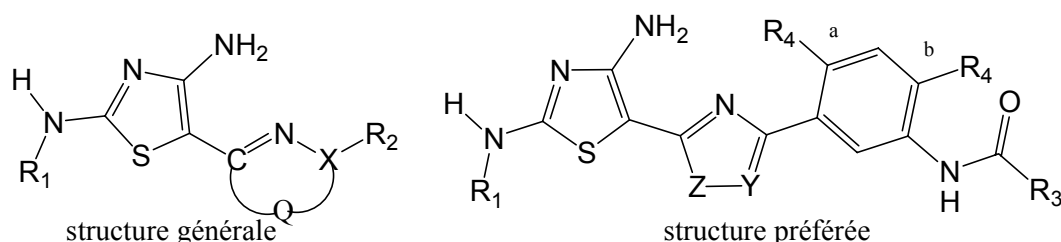


Figure 56 : Les diaminothiazoles décrits par Chu *et al.*

L'évaluation de l'activité inhibitrice a été effectuée à partir de la Chk1 humaine recombinante comprenant les 476 aminoacides et un groupe des six histidines sur la partie C-terminale (FL-CHK1). Les essais ont été initiés avec 10 nM de FL-CHK1. Les valeurs des K_i sont déterminées en mesurant l'activité enzymatique en présence de différentes concentrations de composés. Nous ne donnerons que quelques valeurs de % d'inhibition pour une concentration de 20 μ M (**Tableau 6**).

³² Chu S. S. ; Alegria L. A. ; Bender S. L. ; Benedict S. P. ; Borchardt A. J. ; Kania R. S. ; Nambu M. D. ; Tempczyk-Russell A. M. ; Sarshar S. ; Bhumralkar D. ; Peng Z. ; Yang M. US0025976 (**2002**) CA 134:42124.

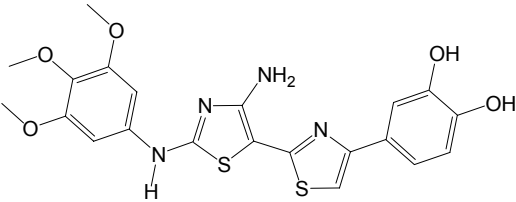
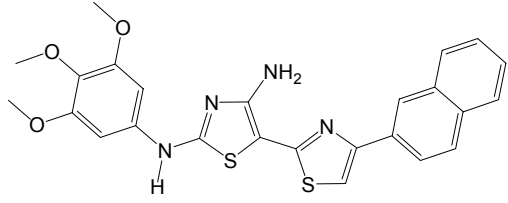
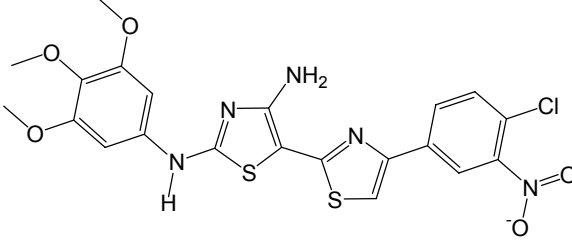
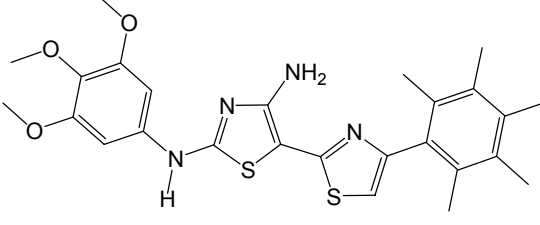
Composés	% inhibition de Chk1 à 20 μ M
	47,7
	46,3
	49,5
	48,3

Tableau 6 : % d'inhibition à 20 μ M de diaminotiazoles.

Des composés ayant une structure de type phénylacétamidothiazole ont été décrits comme inhibiteurs potentiels de la Chk1 (**Figure 57**).³³

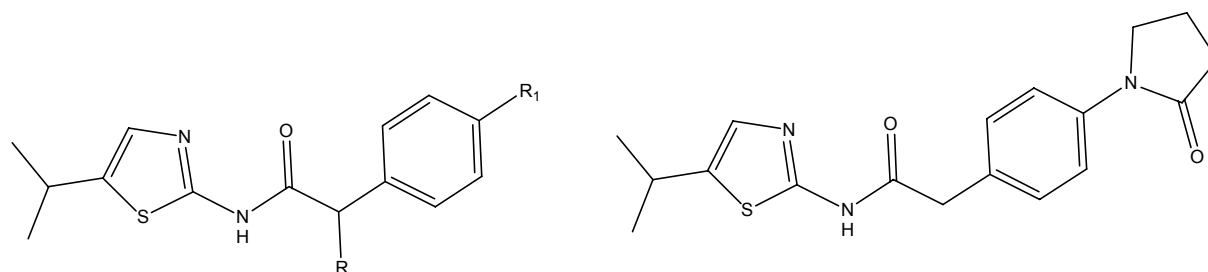


Figure 57 : Structure générale phénylacétamidothiazole et un exemple, inhibiteurs potentiels de la Chk1.

³³ Pevarello P. ; Amici R. ; Villa M. ; Solom B. ; Vulpetti A. ; Varasi M. ; Brasca M. G. ; Traquandi G. ; Nesi M. US0235919 (2004) CA 142:6523.

3. La famille des thiophènes

La Smithkline Beecham Corporation a développé deux familles de thiophènes comme inhibiteurs probables de la Chk1 décrites dans deux brevets^{34,35} : les 2-uréidothiophènes et 3-uréidothiophènes (**Figure 58**).

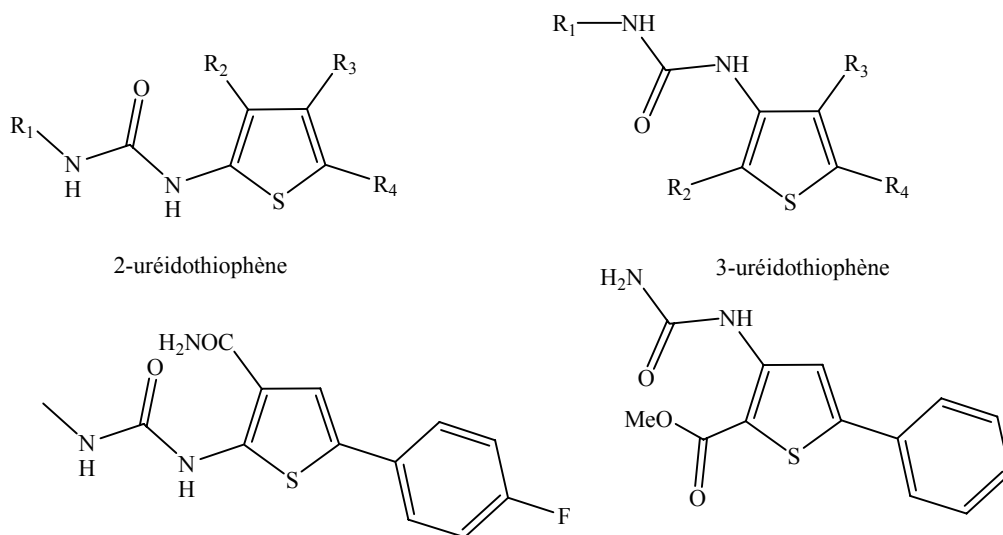


Figure 58 : Formules générales des 2- et 3-uréidothiophènes et deux exemples.

Une étude sur le cycle cellulaire a été effectuée sur des cellules de type Hela S3. Les effets sur le cycle cellulaire ont été examinés sur des cellules en présence de 50 nM de topotécan (dose nécessaire pour induire l'arrêt en G2 mais pas l'apoptose) et en présence de multiples concentrations en composés. Les profils cellulaires ont ensuite été examinés. Les inhibiteurs présumés de la Chk1 seront ceux qui inhiberont l'arrêt en G2 causé par l'action du topotécan, un agent endommageant l'ADN.

Les auteurs ont également observé les effets sur la prolifération et l'apoptose sur différentes lignées cellulaires : Hela S3, HT29 et de Jurkat. Les cellules sont traitées avec des agents endommageant l'ADN (par exemple le topotécan), et avec les composés. Les composés qui sont des inhibiteurs du point de contrôle en G2 vont alors augmenter la cytotoxicité des agents endommageant l'ADN.

Cependant, les résultats de ces tests ne sont pas décrits dans le brevet, et d'autre part l'inhibition du point de contrôle en G2 pourrait être dû à des facteurs autres que l'inhibition de la Chk1.

³⁴ Parrish C. A. ; Callahan J. F. ; Wan Z. ; Burgess J. L. ; Sravenger R. A. ; Holt D. A. WO03028731 (**2003**) CA 138:304152.

³⁵ Parrish C. A. ; Callahan J. F. ; Li Y. ; Sravenger R. A. ; Holt D. A. WO03029241 (**2003**) CA 138:304153.

4. Les indazoles

Les Laboratoires Agouron ont décrit dans plusieurs brevets^{36,37,38} la synthèse de plusieurs structures indazoliques disubstituées dont la structure générale est la suivante (**Figure 59**).

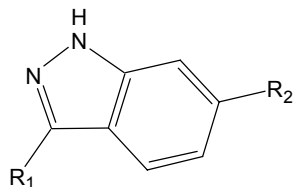


Figure 59 : Formule générale des composés revendiqués.

Les indazoles sont connus pour moduler et/ou inhiber l'activité de certaines protéines kinases. Dans un premier temps, Bender *et al.*³⁶ ont décrit plusieurs exemples de composés (**Figure 60**) susceptibles d'inhiber la Chk1, sans fournir les activités biologiques.

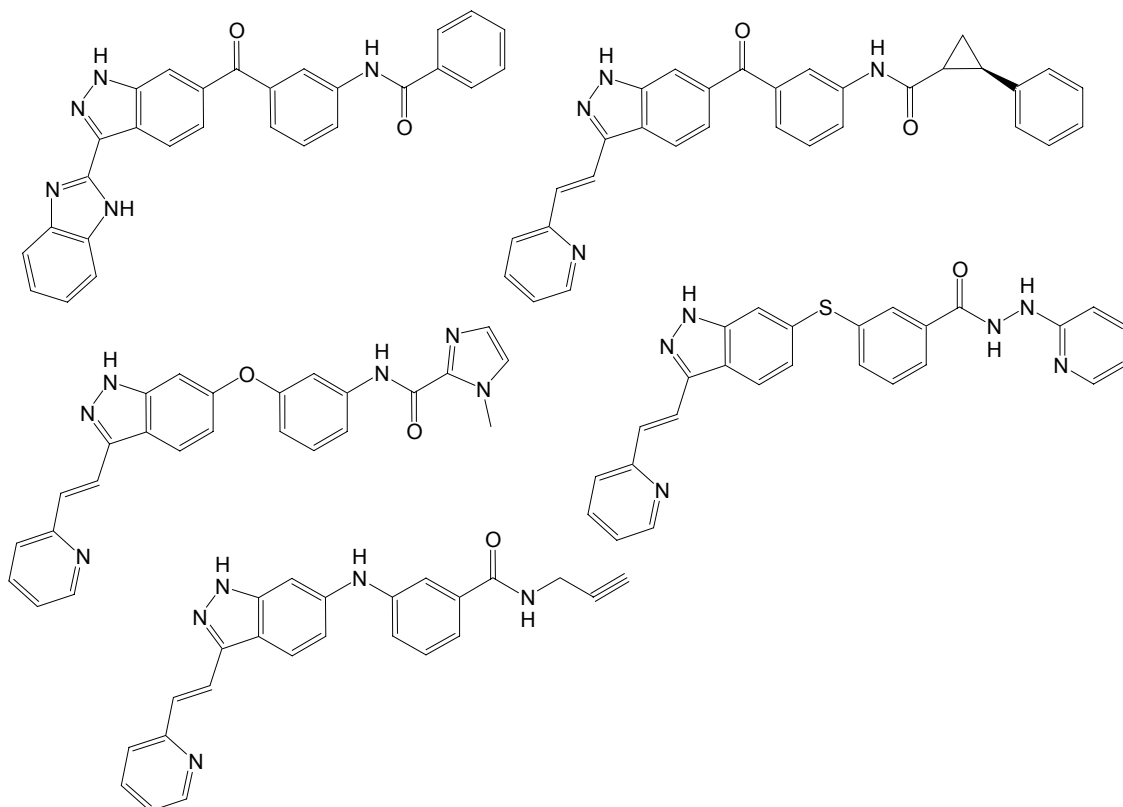


Figure 60 : Sélection de structures de type indazole revendiquées par Bender *et al.*

³⁶ Bender S. ; Skalizky D. J. ; Hu-Lowe D. US0038097 (**2005**) CA 142:212410.

³⁷ Kania R. S. ; Bender S. L. ; Borchardt A. J. ; Cripps S. J. ; Palmer C. L. ; Tempczyk-Russell A. M. ; Varney M. D. ; Collins M. R. US0124662 (**2005**) CA 142:212410.

³⁸ Kephart S. E. ; McAlpine I. J. ; Reich S.H. US0026960 (**2005**). Kania R. S. ; Bender S. L. ; Borchardt A. J. ; Cripps S. J. ; Palmer C. L. ; Tempczyk-Russell A. M. ; Varney M. D. ; Collins M. R. US0124662 (**2005**) CA 142:198077.

Un peu plus tard, Kania *et al.*³⁷, dans une extension du brevet, décrivent plus précisément des exemples en donnant des valeurs de constantes d'inhibition. Les tests d'activité inhibitrice ont été menés à partir d'une Chk1 humaine recombinante comprenant un groupe de 6 histidines dans le domaine C-terminal et les 476 premiers résidus aminoacides (FL-CHK1). Les essais ont été initiés avec une concentration en FL-CHK1 de 10 nM. Les valeurs de K_i sont déterminées par la mesure de l'activité enzymatique en présence de concentrations variables des différents composés.

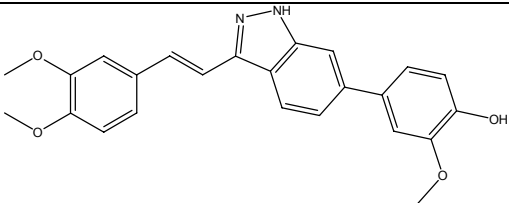
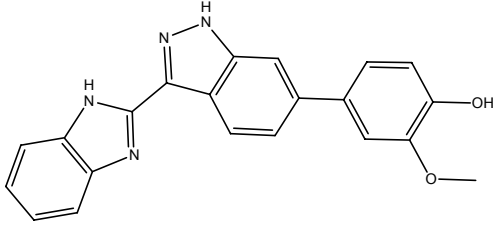
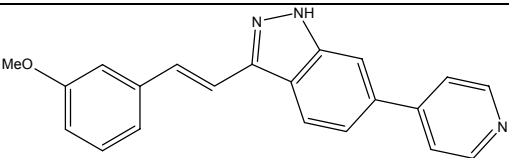
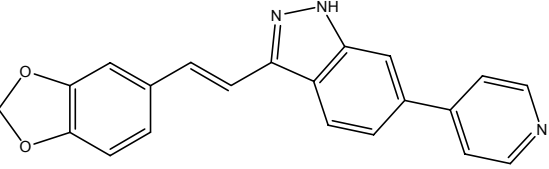
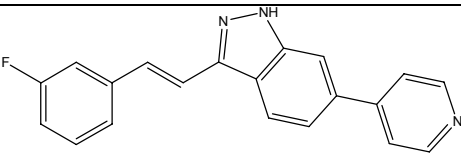
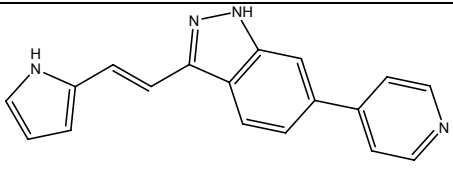
Composés	K_i
<p>C1</p> 	5,2
<p>C2</p> 	4,8
<p>C3</p> 	74
<p>C4</p> 	72
<p>C5</p> 	68
<p>C6</p> 	72

Tableau 7 : K_i sur la Chk1 en nM pour une concentration en composé de 1 μ M.

³⁷ Kania R. S. ; Bender S. L. ; Borchardt A. J. ; Cripps S. J. ; Palmer C. L. ; Tempczyk-Russell A. M. ; Varney M. D. ; Collins M. R. US0124662 (2005) CA 142:212410.

Kephart *et al.*³⁸ dans un autre brevet des Laboratoires Agouron, donnent des exemples d'indazoles 3,5-disubstitués dont la structure générale est la suivante (**Figure 61**).

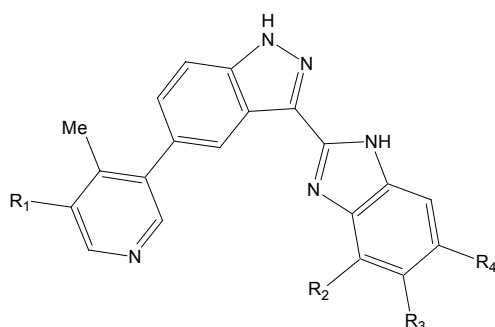


Figure 61 : Structure générale d'indazoles 3,5-disubstitués revendiquée par Kephart *et al.*

Les composés **C7** et **C8** ont été testés (**Figure 62**) sur un large panel de protéines kinases dont la Chk1, afin de déterminer leur sélectivité enzymatique. Ils ont été comparés aux composés **D**, déjà décrits dans un autre brevet³⁹ plus ancien, mais qui n'avaient pas été testés (**Tableau 8**).

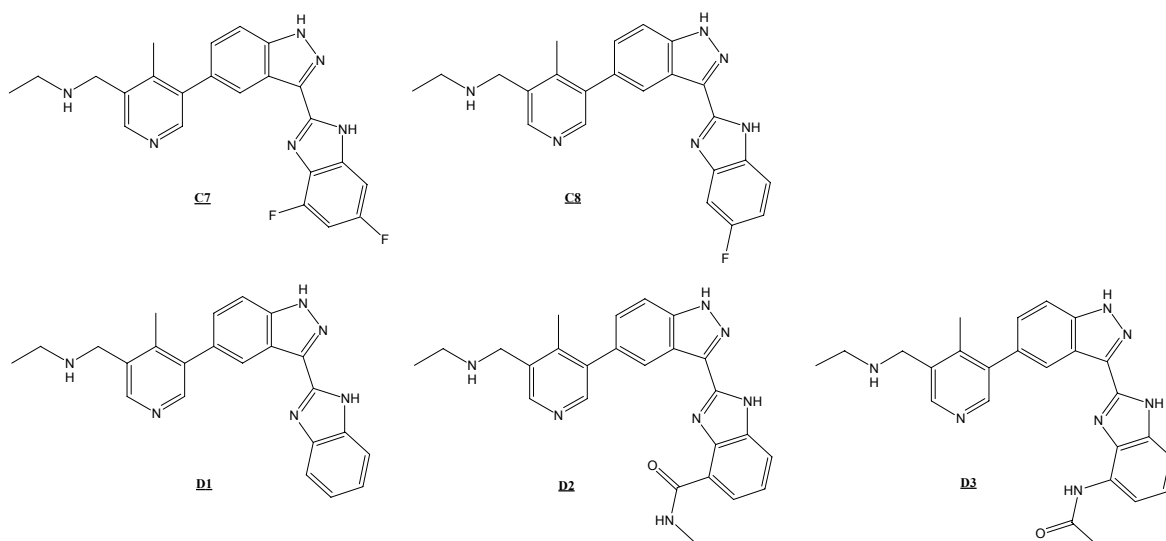


Figure 62 : Structures des composés C et D testés sur la Chk1.

Les composés **C** sont des inhibiteurs puissants de la CDK2/cycline A. Cependant, ils n'inhibent pas la Chk1. Seuls les composés **D1** et **D2** inhibent la Chk1.

³⁸ Kephart S. E. ; McAlpine I. J. ; Reich H. S. US0026960 (**2005**) CA 142:198077.

³⁹ Reich S. H. ; Bleckman T. M. ; Kephart E. ; Romines W. H. ; Wallace M. B. US6555539 (**2003**) CA 135:137505.

	<u>D1</u>	<u>D2</u>
AMPK	++	++
CDK2/A	++	++
Chk1	+	+
CK1	-	-
CK2	-	-
CSK	-	-
GSK3 β	++	++
PKC α	+	++
PKA	++	++
PRAK	++	+
ROCK-II	++	+

Tableau 8 : Activités des indazoles D1 et D2.

++ inhibition puissante ; + inhibition modérée ; - faible inhibition.

AMPK : AMP-activated protein kinase, CK1 et CK2 : casein kinase 1 et 2, CSK : cytoplasmic tyrosine kinase : GSK3 β : glycogen synthase kinase 3, PKA : protein kinase A, PKC α : protein kinase C, PRAK : p-38-regulated/activated kinase, ROCK-II : Rho-dependent protein kinase.

Bhagwat *et al.*⁴⁰ décrivent également plusieurs indazoles 3,5-disubstitués (**Figure 63**). Plusieurs composés ont été testés sur la Chk1 mais les activités inhibitrices ne sont pas indiquées dans le brevet.

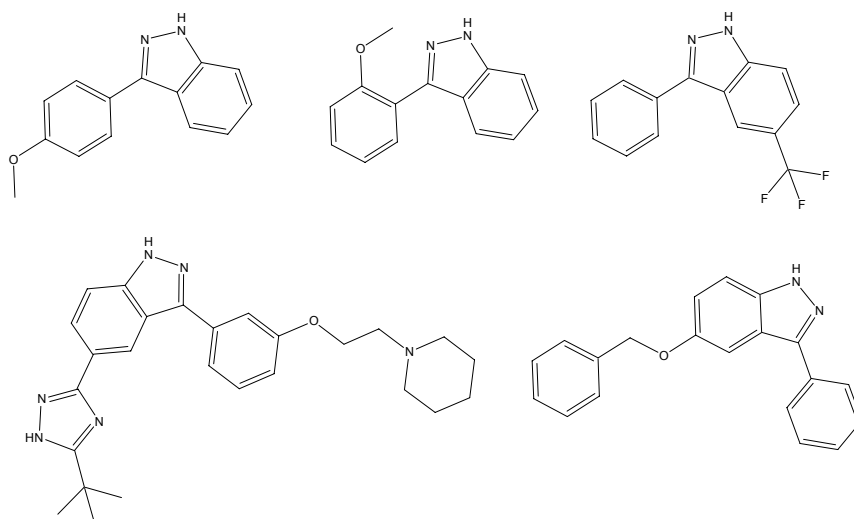


Figure 63 : Quelques exemples d'indazoles 3,5 disubstitués décrits par Bhagwat *et al.*

⁴⁰ Bhagwat S. S. ; Satoh Y. ; Sakata S. T. ; Buhr C. A. ; Albers R. ; Sapienza J. ; Plantevin V. ; Chao Q. ; Sahasrabudhe K. ; Ferri R. ; Narla R. K. US0009876 (**2005**) CA 142:134589.

Des 3-aminoindazoles ont aussi été décrits par Amici *et al.*⁴¹ comme inhibiteurs potentiels de la Chk1.

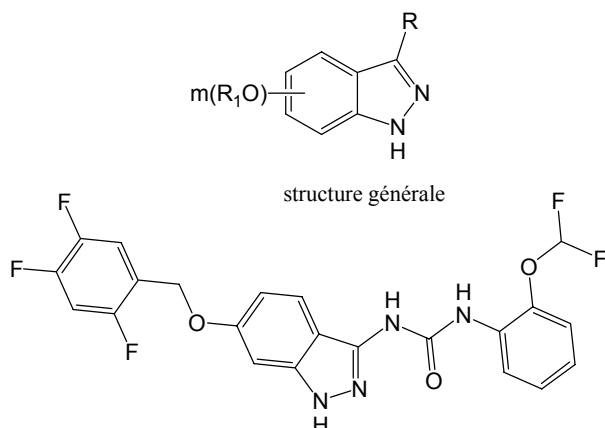


Figure 64 : Structure générale et un exemple de 3-aminoindazole, inhibiteurs potentiels de la Chk1.

5. Inhibiteurs de type urée

Les 1-(5-chloro-2-alkoxyphényl)-3-(5-cyanopyrazin-2-yl)urées ont récemment été synthétisées (Figure 65).⁴²

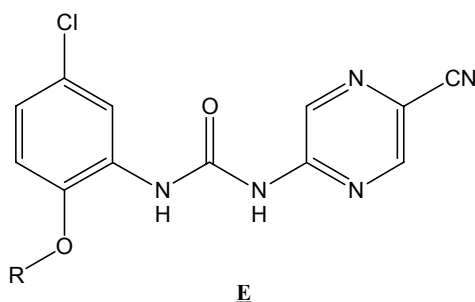


Figure 65 : Structure générale d'un inhibiteur contenant un motif urée.

Les composés de structure générale E sont des inhibiteurs sélectifs et puissants de la protéine kinase Chk1. Les IC₅₀ varient de 3 à 10 nM selon le groupement R (Tableau 9).

⁴¹ Amici R. ; D'Anello M. ; Martina K. ; Salom B. ; Vulpetti A. US0254177 (2004) CA 138:304278.

⁴² Wang G. T. ; Li G. ; Mantei R. A. ; Chen Z. ; Kovar P. ; Gu W. ; Xiao Z. ; Zhang H. ; Sham H. L. ; Sowin T. ; Rosenberg S. H. ; Lin N.-H. *J. Med. Chem.*, **2005**, 48, 3118-3121.

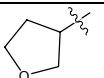
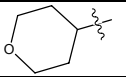
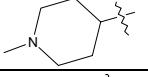
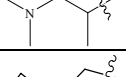

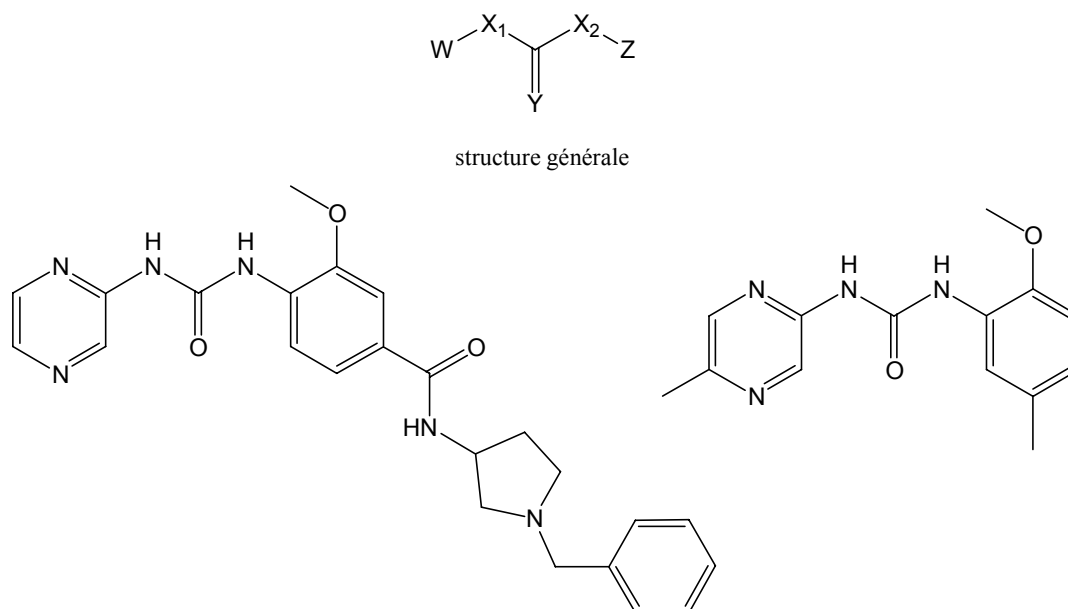
Composés	R	IC ₅₀ sur la Chk1 (en nM)
<u>E1</u>		3
<u>E2</u>		5
<u>E3</u>		10
<u>E4</u>		8
<u>E5</u>		7

Tableau 9 : Activité sur la Chk1 des composés **E**.

Des expériences ont pu confirmer que le composé **E5** inhibe l'arrêt en G2 sur des cellules tumorales H1299 (cancer du poumon) traitées à la doxorubicine (inhibition de l'arrêt en G2/M) ou à la camptothécine (inhibition de l'arrêt en phase S). De plus, ces expériences ont démontré que le composé **E5** empêche la dégradation de la Cdc25A lorsque les cellules sont soumises à un traitement par la doxorubicine ou la camptothécine.

Keegan *et al.*⁴³ ont décrit une famille d'urées dont la formule générale est indiquée ci-dessous, substituées en particulier par un groupement aryle ou hétéroaryle.

Figure 66 : Structure générale revendiquée par Keegan *et al.* et deux exemples

Les activités des composés testés sur Chk1 ont des valeurs d'IC₅₀ comprises entre 1 µM et 100 µM mais aucune de ces valeurs d'activité n'est associée à une structure.

⁴³ Keegan K. S. ; Kesicki E. A. ; Gaudino J. J. ; Cook A. W. ; Cowen S. C. ; Burgess L. E. US0069284 (2003) CA 137:232680.

Li *et al.*⁴⁴ se sont aussi intéressés aux urées en tant qu'inhibiteurs de la Chk1. Les composés revendiqués ont la structure générale suivante (**Figure 67**) :

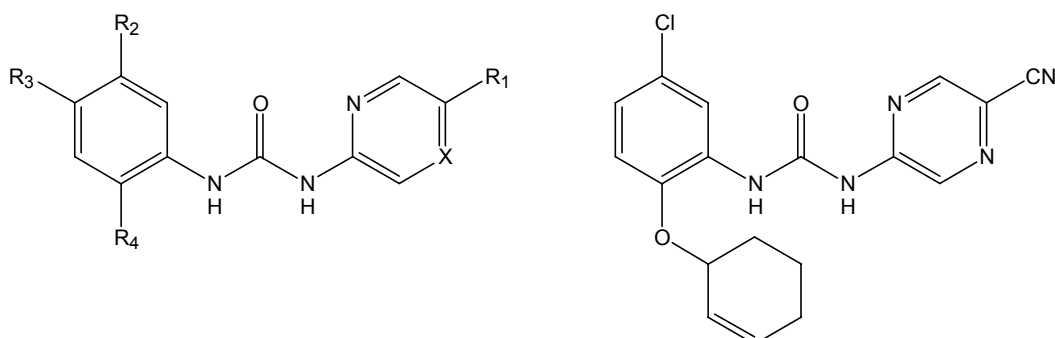


Figure 67 : Structure générale d'inhibiteurs de la Chk1 de type urée revendiquée par Li *et al.* et un exemple.

Les tests sur la Chk1 ont été effectués à partir d'une Chk1 recombinante. Les composés revendiqués inhibent la Chk1 avec des IC_{50} comprises entre 2 nM et 5 μ M.

Le Groupe Millenium Pharmaceuticals^{45,46} s'est également intéressé à la synthèse d'inhibiteurs de la Chk1 de type urée (**Figure 68**).

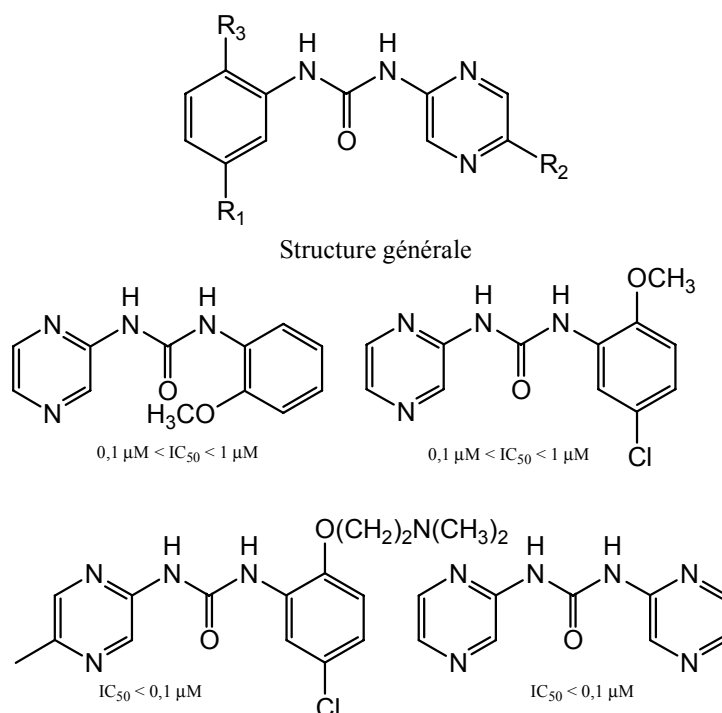


Figure 68 : Structure générale revendiquée par Boyle *et al.* ainsi que quelques exemples de composés testés sur la Chk1 et leur valeurs d' IC_{50} .

⁴⁴ Li G. ; Li Q. ; Li T. ; Lin N.-H. ; Mantei R. A. ; Sham H. L. ; Wang G. T. ; US0259885 (**2004**) CA 142:74611.

⁴⁵ Boyle R. G. ; Imogai H. I. ; Cherry M. US0014765 (**2004**) CA 140:16750.

⁴⁶ Boyle R. G. ; Imogai H. I. ; Cherry M. ; Humphries A. J. ; Navarro E. F. ; Owen D. R. ; Dales N. A. ; Lamarche M. ; Cullis C. ; Gould A. E. WO05028474 (**2005**) CA 142:355175.

Tao *et al.*⁴⁷ ont décrit des structures macrocycliques contenant un motif urée de structure générale suivante.

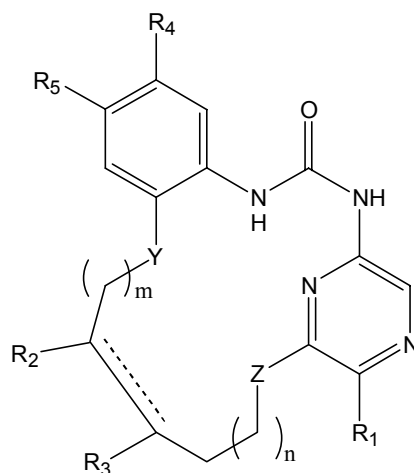


Figure 69 : Formule générale de macrocycles revendiqués par Tao *et al.*

Les tests ont été effectués avec une Chk1 recombinante. Les composés du brevet présentent des IC₅₀ comprises entre 5 nM et 5 μM.

6. Inhibiteurs hétéroaromatiques

Plusieurs familles d'inhibiteurs sont classées dans cette famille :

a) Les carbazoles

Booth *et al.*⁴⁸ décrivent la synthèse de plusieurs pyrrolocarbazoles dérivés de la formule ci-dessous (**Figure 70**) pouvant inhiber l'un et/ou l'autre des checkpoint kinases Wee1 ou Chk1.

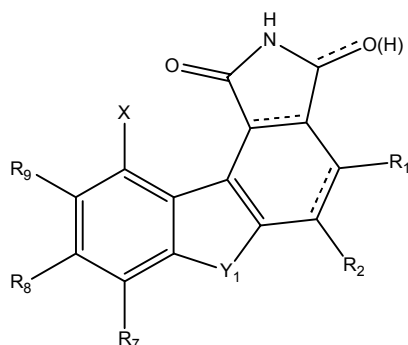


Figure 70 : Formule générale revendiquée par Booth *et al.*

⁴⁷ Tao Z.-F. ; Lin N.-H. ; Wang L. ; Sowin T. J. US0096324 (**2005**) CA 142:430309.

⁴⁸ Booth R. J. ; Denny W. A. ; Dobrusin E. M. ; Kraker A. J. ; Mitchell L. H. ; Smaill J. B. ; Thompson A. M. ; Lee H. H. ; McCarthy F. O. J. ; Palmer B. D. WO03091255 (**2003**) CA 139:381469.

Les auteurs décrivent la synthèse de plusieurs structures privilégiées dont la formule **(I)** ci-dessous.

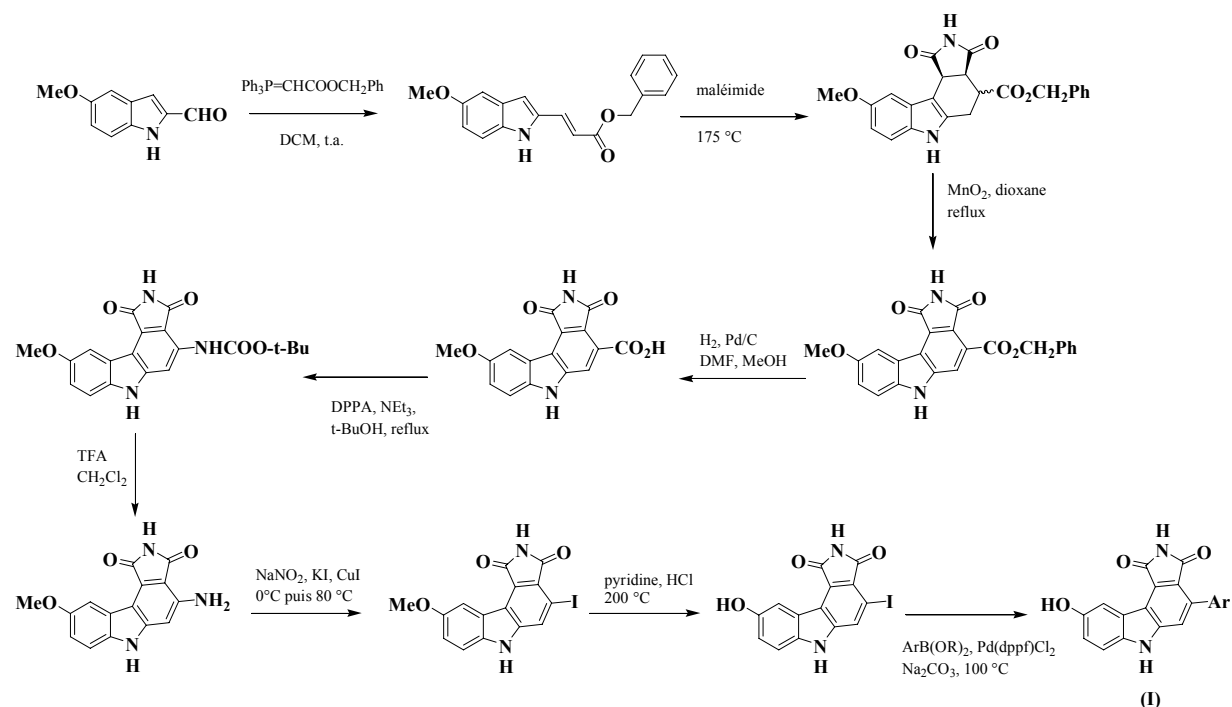


Figure 71 : Accès aux composés de formule **(I)**.

L'azote du carbazole peut être substitué pour accéder aux composés de structure **(VI)**

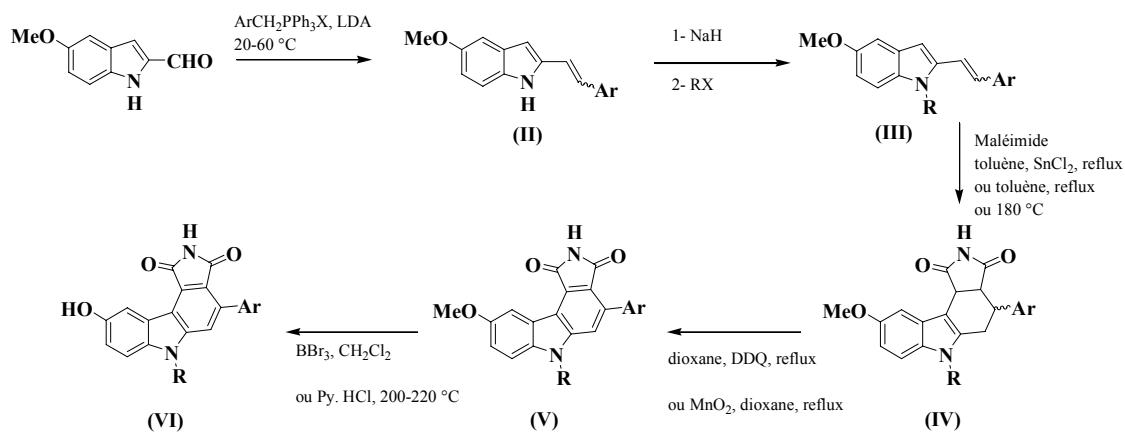
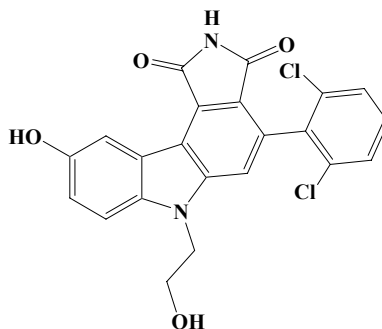


Figure 72 : Stratégie de synthèse pour accéder aux composés de formule **(VI)**.

Comme exemple des composés de formule **(VI)** synthétisés, on citera le composé **F1** dont la structure figure ci-dessous.

Figure 73 : Structure du composé **F1**.

Les composés de structure (V) permettent d'accéder aux composés de structure (VIII) (exemple : le composé **F2**).

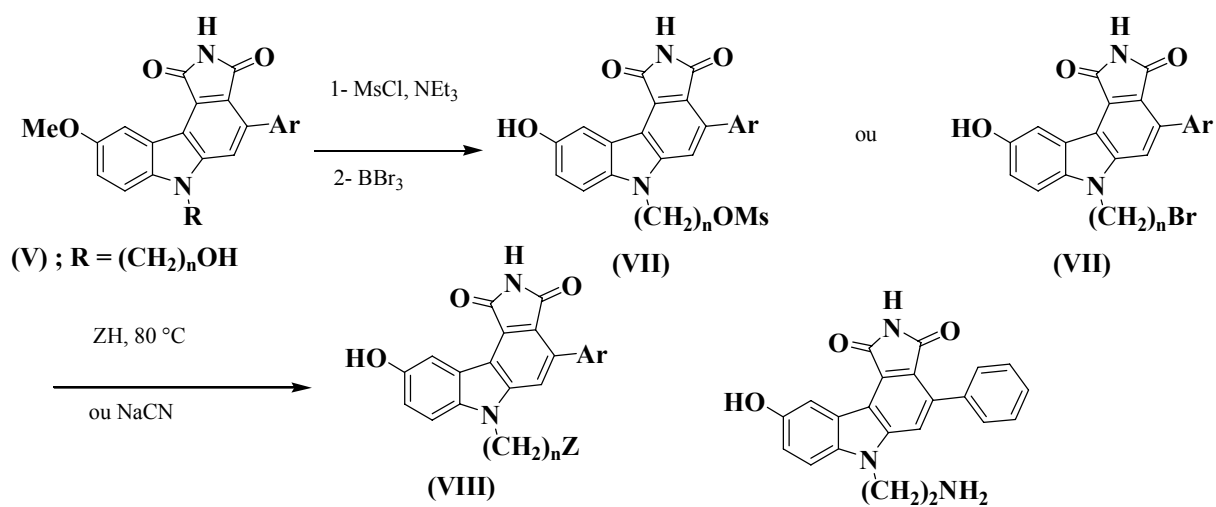
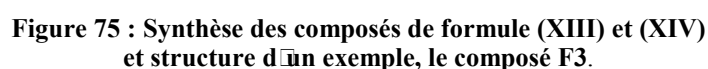


Figure 74 : Synthèse des composés de la formule (VIII).

D'autres modifications peuvent également être faites sur la chaîne portée par l'azote du carbazole pour accéder aux composés de structure (XIII) ou (XIV) (exemple : le composé **F3**).



Composés	Wee1	Chk1	PKC
F1	0,263	0,056	1,8
F3	0,295	0,002	0,171

On trouve également des structures de type carbazole dans le brevet de Gilmartin *et al.*⁴⁹ de structure générale indiquée **Figure 76**. L'exemple décrit **Figure 76** n'est autre que le composé **SB218078** déjà vu dans le chapitre précédent comme étant un analogue de la staurosporine (**Figures 16 et 21**).

⁴⁹ Gilmartin A. G. ; Ho M. L. ; Imbrugia C. S. ; Roshak A. K. ; Lago M. A. WO0016781 (**1999**) CA 132:246345.

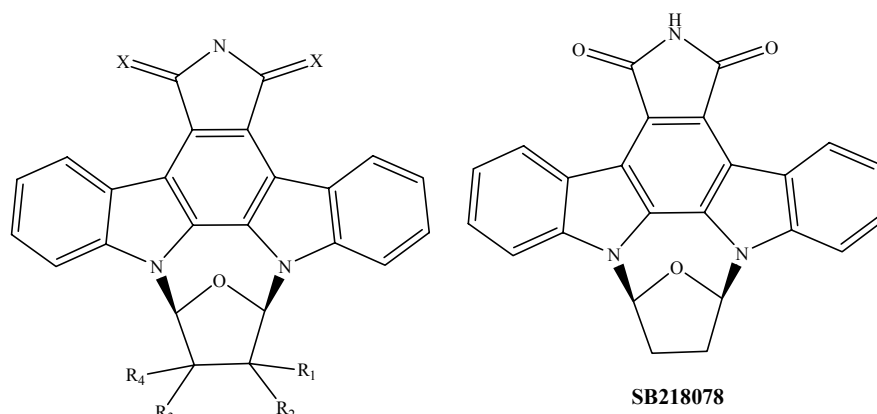


Figure 76 : Structure générale de Gilmartin *et al.*

Les tests d'inhibition de la Chk1 ont été menés à partir d'une Chk1 recombinante : la GST-CHK1. En ce qui concerne les études sur le cycle cellulaire, l'inhibition de l'arrêt en G2 a été étudiée sur des cellules préalablement traitées au topotécan avec une concentration de 50 nM (dose nécessaire et suffisante pour induire l'arrêt en G2 sans induire l'apoptose).

La prolifération cellulaire et l'apoptose ont également été étudiées sur des cellules Hela S3, HT29 et de Jurkat. Les cellules reçoivent de multiples concentrations en agents endommageant l'ADN (par exemple : le topotécan) et en composés. Les inhibiteurs de la Chk1 vont augmenter l'action des agents endommageant l'ADN.

Aucun résultat de ces tests n'est décrit dans le brevet.

b) *Dérivés indoliques*

Des structures de type 7-azaindolyl-hétéroaryl-maléimides (composés **G**) ont été décrites par O'Neill *et al.*⁵⁰

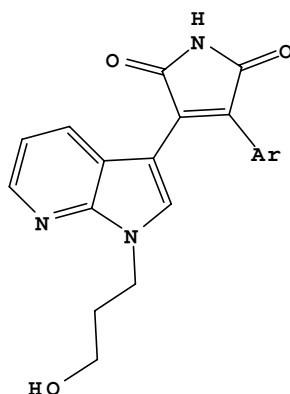


Figure 77 : Structure générale des composés **G**.

⁵⁰ O'Neill D. J. ; Shen L. ; Prouty C. ; Conway B. R. ; Westover L. ; Xu J. Z. ; Zhang H.-C. ; Maryanoff B. E. ; Murray W. V. ; Demarest K. T. ; Kuo G.-H. *Bioorg. Med. Chem.*, **2004**, *12*, 3167-3185.

Ces composés sont connus en tant qu'inhibiteurs de la GSK-3 β (Glycogène Synthase Kinase 3). Trois composés ont été sélectionnés et testés par UBI (Upstate Biotech Inc.), sur un panel de 80 kinases, dont la Chk1, afin d'évaluer leur sélectivité. Les résultats sur la GSK-3 β et sur la Chk1 sont décrits ci-dessous (**Tableau 11**)



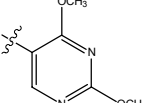
Composés	Ar	GSK 3 β	Chk1
<u>G1</u>		8	67
<u>G2</u>		12	88
<u>G3</u>		4	75

Tableau 11 : Activités sur les enzymes, exprimées en % par rapport au contrôle à une concentration de 10 μ M en composés.

Les composés **G1**, **G2** et **G3** inhibent l'activité de la GSK-3 β respectivement de 92%, 88% et 96% à 10 μ M alors qu'ils ne sont que de faibles inhibiteurs de la Chk1.

Des structures de type oxindole sont décrites par les Laboratoires ABBOTT⁵¹ comme inhibiteurs de protéines kinases.

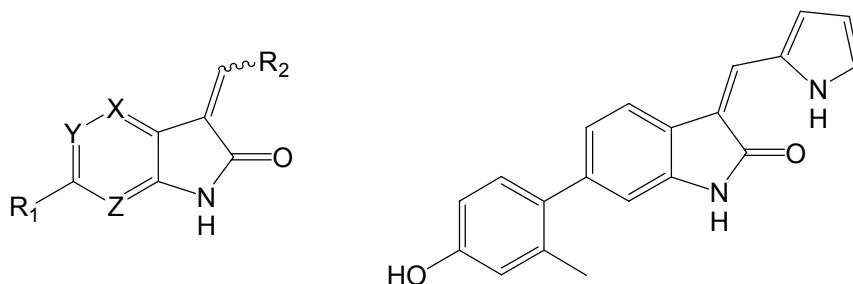


Figure 78 : Structures de type oxindole et un exemple.

Les activités biologiques des composés ont été déterminées à partir d'une Chk1 recombinante. Les valeurs des IC₅₀ sur la Chk1 vont de 1 nM à 10 μ M.

c) Composés de type diazépinique

Les composés revendiqués par Hasvold *et al.*⁵² possèdent la structure générale de type dibenzo[*b,e*][1,4]diazépine-11-one suivante (**Figure 79**) :

⁵¹ Lin N-H. ; Sham H. L. ; Xia P. US0162785 (**2003**) CA 139:214337.

⁵² Hasvold L. A. ; Hexamer L. ; Li G. ; Lin N.-H. ; Sham H. ; Sullivan G. M. ; Wang L. ; Xia P. US0254159 (**2004**) CA 142:38288.

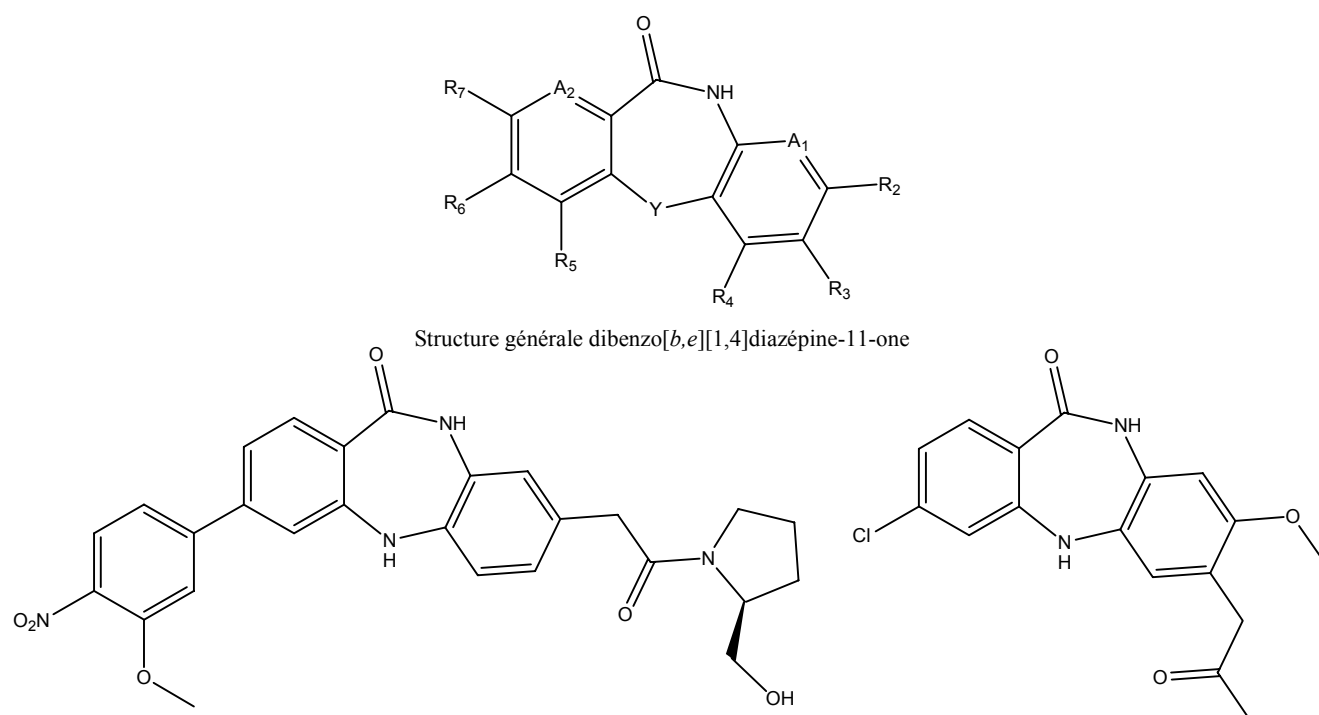


Figure 79 : Structure générale revendiquée par Hasvold *et al.* et deux exemples.

Les tests ont été menés sur une Chk1 recombinante possédant un groupe de 6 histidines sur la partie C-terminale et les 289 premiers résidus aminoacides. Les composés testés possèdent des IC₅₀ entre 0,2 nM et 280 μM.

Le groupe pharmaceutique Agouron a décrit la synthèse de plusieurs composés diazépinoindoles polycycliques **H** (Figure 80).^{53,54}

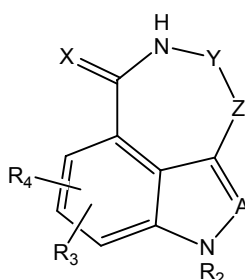
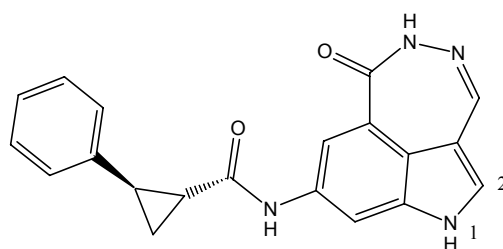


Figure 80 : Structure générale des composés **H.**

Parmi les composés synthétisés, le composé décrit ci-dessous (composé **H1**) est considéré comme un inhibiteur modèle de la Chk1 (Figure 81).

⁵³ Benedict S. ; Bennett M. ; Ninkovic S. ; Teng M. ; Rui Y. ; Wang F. US0075499 (2005) CA 141:157141.

⁵⁴ Ninkovic S. ; Bennett M. J. ; Rui Y. ; Wang F. ; Benedict S. P. WO04063198 (2004) CA 141:157141.



$$K_i = 0,000738 \text{ nM}$$

Figure 81 : Structure du prototype **H1** et son K_i sur la Chk1.

Plusieurs substitutions en position 2 sur ce composé ont été effectuées et les constantes d'inhibition sur la Chk1 ont été déterminées (**Tableau 12**).

Composés	Substituant en 2	K_i (μM)
H2	Cl	0,0001
H3	COOCH ₃	0,000115
H4		0,000196
H5		0,000068
H6		0,000219

Tableau 12 : K_i sur la Chk1 d'analogues de **H1** substitués.

d) Pyrimidines et pyrazines

Bryant *et al.*⁵⁵ décrivent des structures pyrimidiniques de structure générale ci-dessous :

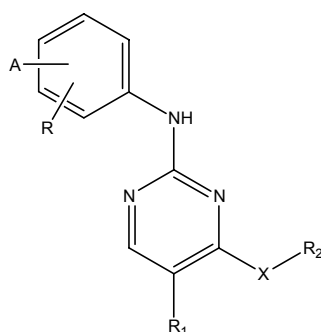


Figure 82 : Structure générale revendiquée par Bryant *et al.*

Quelques exemples de composés dont les activités sont les plus intéressantes sur la Chk1 sont représentés ci-dessous (**Figure 83**) ainsi que leurs valeurs d'IC₅₀ (**Tableau 13**).

⁵⁵ Bryant J. ; Kochanny M. J. ; Yuan S. ; Khim S.-K. ; Buckman B. O. ; Arnaiz D. O. ; Bomer U. ; Briem H. ; Esperling P. ; Huwe C. ; Kuhnke J. ; Schafer M. ; Wortmann L. ; Kosemund D. ; Eckle E. ; Feldman R. J. ; Phillips G. B. US0186118 (2004) CA 141:38625.

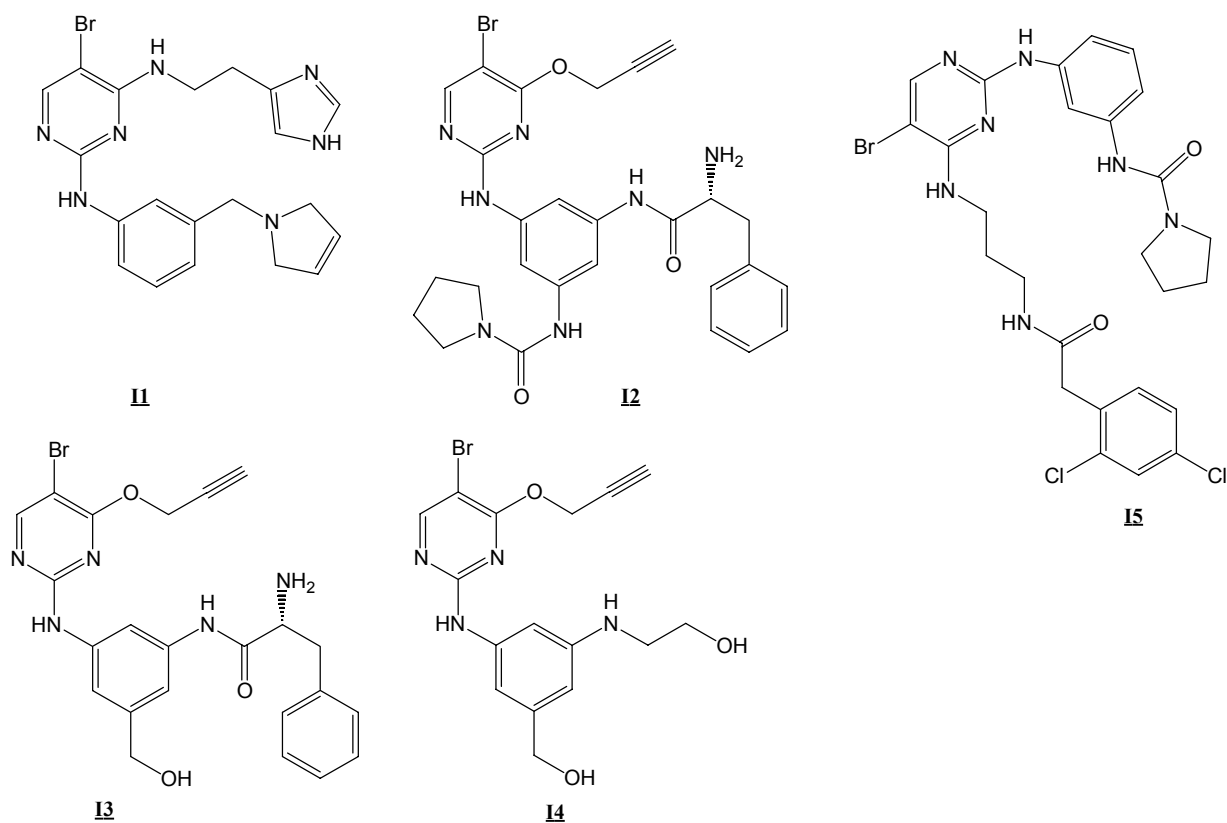


Figure 83 : Structures des composés **1** les plus actifs sur la Chk1 décrits par Bryant *et al.*

Composés	IC ₅₀ (nM)
11	440
12	300
13	200
14	80
15	20

Tableau 13 : Valeurs d'IC₅₀ sur la Chk1.

Foloppe *et al.*⁵⁶ ont effectué un screening à partir d'une librairie de produits commerciaux (ChemDiv). Au cours de ce screening, le composé **11** a montré une activité inhibitrice sur la Chk1 avec une valeur d'IC₅₀ de 15,4 μ M. Les auteurs ont également montré que le composé **11** était un inhibiteur de la Chk1 compétitif de l'ATP avec une valeur de K_i de 7,2 μ M.

⁵⁶ Foloppe N. ; Fisher L. M. ; Howes R. ; Kierstan P. ; Potter A. ; Robertson G. S. ; Surgenor A. E. *J. Med. Chem.*, **2005**, 48, 4332-4345.

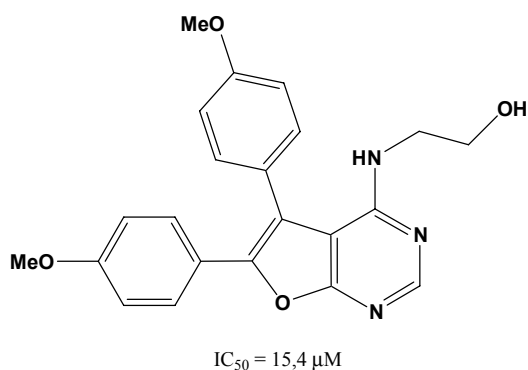


Figure 84 : Structure de **J1** et son IC₅₀.

Foloppe *et al.* ont alors modélisé l'interaction de différents analogues dans le site de fixation de l'ATP de la Chk1.

Les bases structurales ont été identifiées à partir d'une étude de docking du composé **J1** avec la structure aux rayons X de la Chk1.⁸ Deux modes de liaison se sont alors révélés intéressants (Mode A et B, Figure 85) dans lesquels le composé **J1** est correctement disposé dans le site de fixation de l'ATP. Les liaisons hydrogène ne modifient pas la conformation du domaine kinase de la protéine.

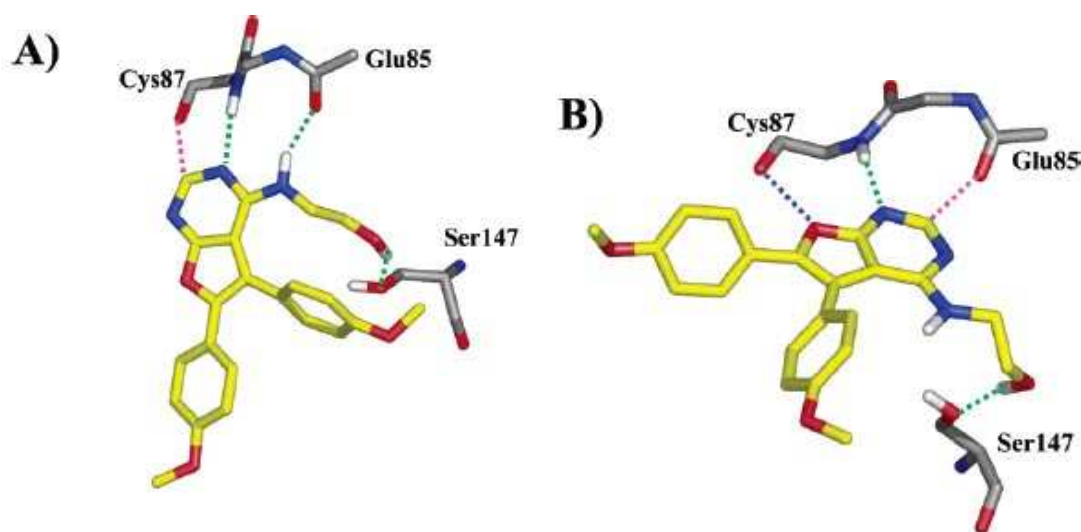


Figure 85 : Deux orientations du composé **J1** dans le site ATP de la Chk1.

Sur les deux modèles, les deux groupements méthoxy sont en périphérie du site. Bien qu'un des groupements méthoxy sur le mode A établit une liaison hydrogène avec le résidu Lys 38, cette interaction n'est pas supposée contribuer de manière significative à l'affinité du composé dans le site étant donné la flexibilité intrinsèque de la chaîne latérale de la lysine et la compétition avec les molécules d'eau dans ce site exposé au solvant. La synthèse des composés **J2** et **J3** a donc été effectuée afin de vérifier si les modes A et B sont corrects : **J2**

⁸ Chen P. ; Luo C. ; Deng Y. ; Ryan K. ; Register J. ; Margosiak K. ; Tempczyk-Russell A. ; Nguyen B. ; Myers P. ; Lundgren K. ; Kan C. C. ; O'Connor P. *Cell.*, **2000**, *100*, 681-692.

ayant des groupements phényles au lieu de 4-méthoxyphényles et **J3** comportant un méthyle sur l'azote de la chaîne latérale.

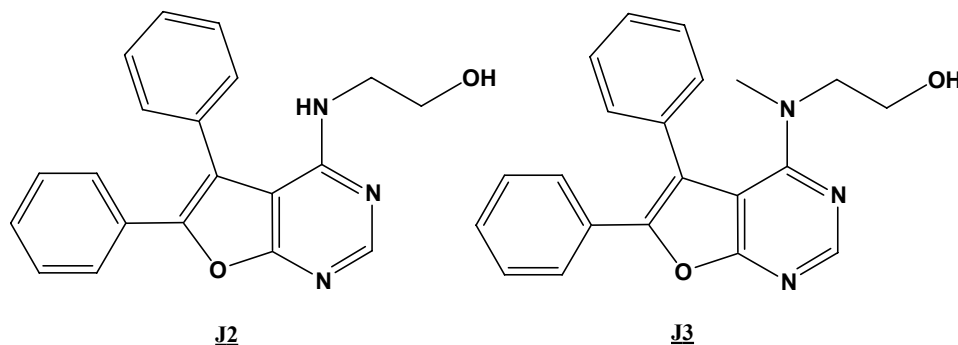


Figure 86 : Structure des composés **J2** et **J3**.

Le composé **J3** est légèrement plus actif que **J1** et **J2** (Tableau 14) ce qui implique que le mode A est incorrect. Les structures cristallographiques des composés **J1**, **J2** et **J3** ont alors été résolues. Les trois structures ont donné le même mode de liaison (Figure 87), similaire au mode B.

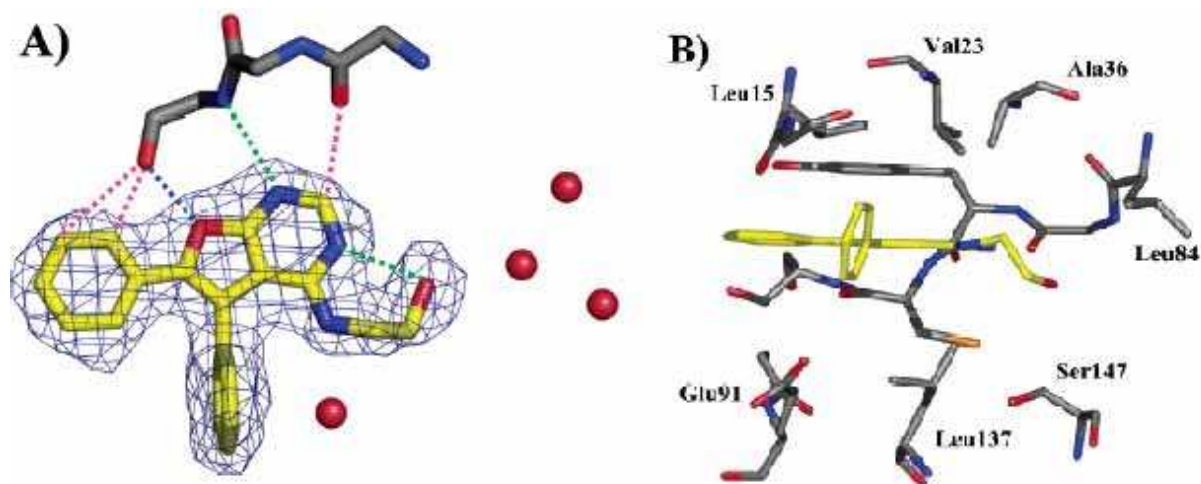


Figure 87 : Structure cristallographique du composé **J2** dans le site de fixation de l'ATP de la Chk1. En A) figure la densité électronique et les interactions. Les liaisons hydrogène classiques sont en pointillés vert alors que les liaisons C-H...O sont tracées en magenta. Le contact entre l'atome d'oxygène du furane et l'oxygène du carbonyle du résidu Cys87 est en bleu. Les molécules d'eau sont représentées sous forme de sphères rouges.

Une autre étude visant à augmenter l'affinité des composés a ensuite été effectuée. Les composés **J5**, **J6** et **J7** ont été synthétisés en remplaçant le cycle furane par un pyrrole, l'atome d'azote pouvant créer une liaison hydrogène supplémentaire entre le ligand et la protéine. Ainsi le composé **J5** a montré une activité 10 fois supérieure à celle du composé **J2**. La structure cristalline de **J5** avec la Chk1 confirme que l'azote du pyrrole établit une liaison hydrogène avec le résidu Cys87.

Les composés **J6** et **J7** ont été synthétisés afin d'étudier une autre stratégie pour augmenter l'affinité des composés, en ciblant la poche contenant les trois molécules d'eau localisées aux

environs de la chaîne hydroxyéthyle. Cette région est en effet attractive pour gagner en puissance d'inhibition. Il est suggéré qu'une augmentation de la longueur de la chaîne dans cette partie pourrait apporter une amélioration considérable de l'affinité et de la sélectivité. Le composé **J7** présente une faible augmentation de l'activité par rapport au composé **J5**. Cependant, d'autres tests devront être effectués afin de confirmer l'importance de cette poche pour l'affinité des ligands vis-à-vis de la protéine.

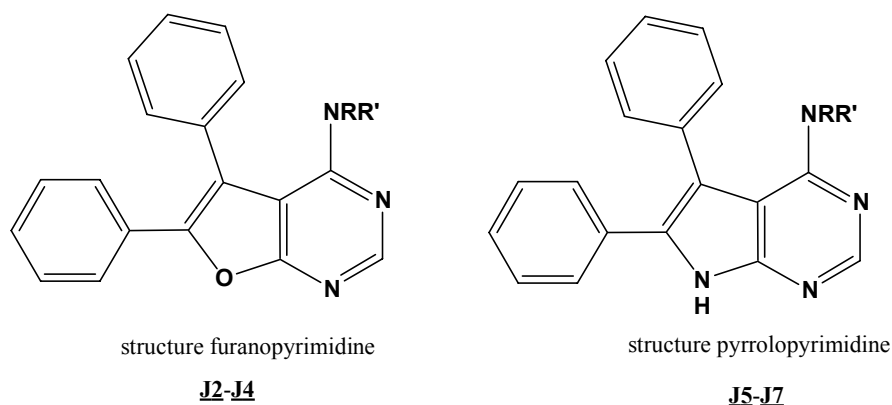


Figure 88 : Structures générales des furanopyrimidines et pyrrolopyrimidine.

Composés	Structures	IC ₅₀ (μM)
J2	R = CH ₂ CH ₂ OH R' = H	20,9
J3	R = CH ₂ CH ₂ OH R' = CH ₃	6,1
J4	R = CH ₂ CO ₂ H R' = H	22,9
J5	R = CH ₂ CH ₂ OH R' = H	2,3
J6	R = CH ₂ CH(CH ₃)OH R' = H	5,5
J7	R = CH ₂ CH(CH ₂ OH)OH R' = H	1,4

Tableau 14 : Valeurs des IC₅₀ en μM des composés **J** sur la Chk1.

Ces différentes études de relations structure-activité ont permis de montrer l'importance des analyses structurales pour l'élaboration de nouveaux composés puissants et sélectifs sur une cible donnée.

Buhr *et al.*⁵⁷ ont décrit des composés des pyrazines de structure générale ci-dessous :

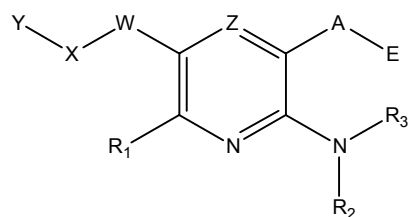


Figure 89 : Structure générale revendiqué par Buhr *et al.*

Les composés ont été testés sur la Chk1 et les IC₅₀ varient de 10 µM à 50 nM.

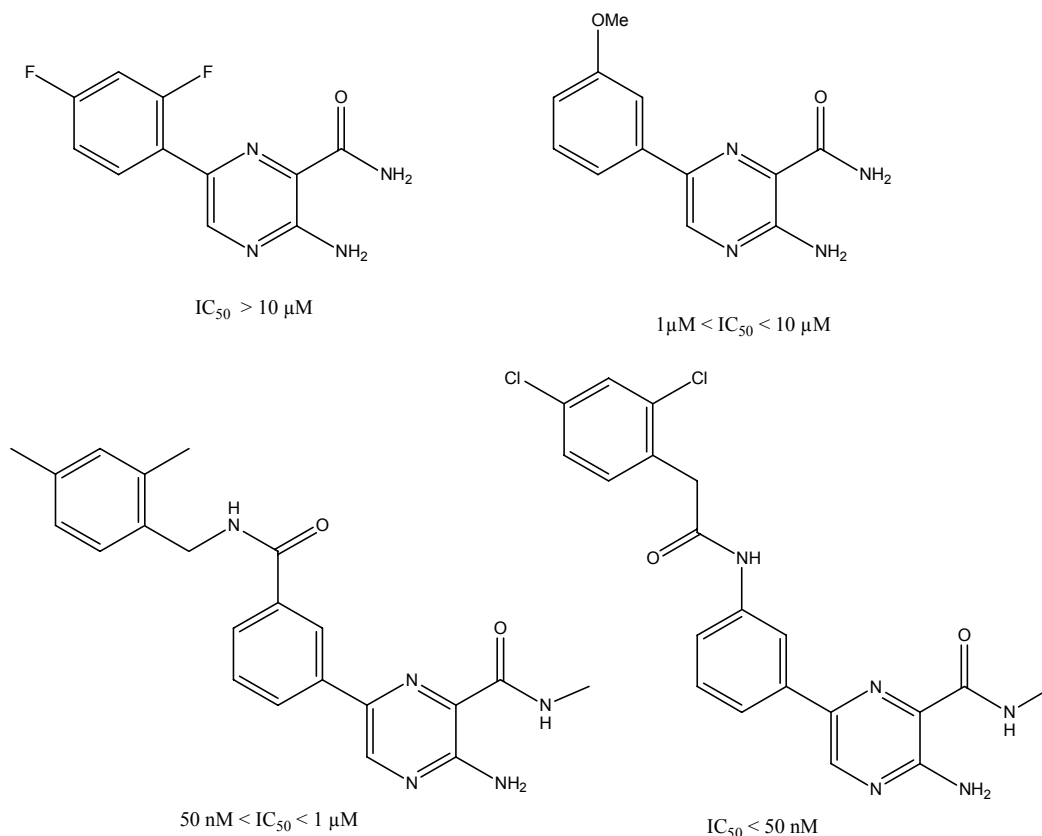


Figure 90 : Exemples de composés et leurs valeurs d'IC₅₀.

⁵⁷ Buhr C. A. ; Baik T.-G. ; Ma S. ; Tesfai Z. ; Wang L. ; Co E. W. ; Epshteyn S. ; Kennedy A. R. ; Chen B. ; Dubenko L. ; Anand N. K. ; Tsang T. H. ; Nuss J. M. ; Peto C. J. ; Rice K. D. ; Ibrahim M. A. ; Schnepf K. L. ; Shi X. ; Leahy J. W. ; Chen J. ; Dalrymple L. E. ; Forsyth T. P. ; Huynh T. P. ; Mann G. ; Mann L. W. ; Takeuchi C. S. WO03093297 (2003) CA 139:395950.

e) Divers dérivés hétéroaromatiques

Jacobs *et al.*⁵⁸ ont décrit la synthèse de composés ayant pour squelette de base celui de la scytonémine (SCY).

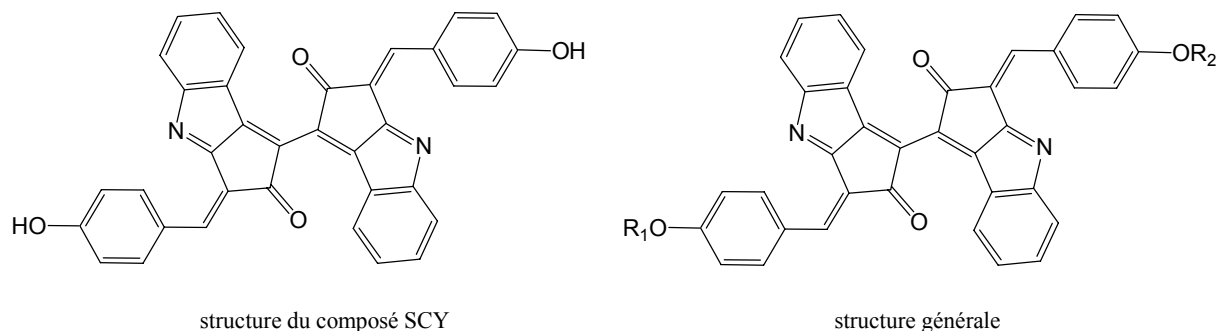


Figure 91 : Structure de la SCY et de la structure générale revendiquée par Jacobs *et al.*

L'activité inhibitrice du SCY sur la GST-CHK1 a été déterminée (**Tableau 15**). La valeur de l'IC₅₀ est de 1,4 µM. La sélectivité du composé vis-à-vis de différentes kinases a également été étudiée : ce composé n'est pas très sélectif de la Chk1.

Protéines kinases	Type de kinase	IC ₅₀
GST-Tie2	Tyrosine	> 10 µM
PKA	Sérine/thréonine	> 10 µM
Rh □PKCb2	Sérine/thréonine	2,73 +/- 0,35 µM
rh □CDK1/cycline B	Sérine/thréonine	3,02 +/- 0,27 µM
GST-Myt1	Thréonine/Tyrosine	1,17 +/- 0,22 µM
GST-CHK1	Sérine/thréonine	1,42 +/- 0,16 µM
GST-PLK1	Sérine/thréonine	1,95 +/- 0,77 µM

Tableau 15 : IC₅₀ du SCY en µM sur plusieurs protéines kinases.

Li *et al.*⁵⁹ décrivent la synthèse de composés dont la structure générale est représentée ci-dessous. La majeure partie des exemples décrits comporte un motif pyridine.

⁵⁸ Jacobs R. S. ; Marshall L. A. ; Gerwick W. H. ; Stevenson C. US0022589 (**2002**) CA 136:178020.

⁵⁹ Li Q. ; Woods K. W. ; Zhu G-D. ; Fisher J. P. ; Gong J. ; Li T. ; Gandhi V. ; Thomas S. A. ; Packard G. K. ; Song X. ; Abrams J. N. ; Dieblod R. ; Dinges J. ; Hutchins C. ; Stoll V. S. ; Rosenberg S. H. ; Giranda V. L. US0187026 (**2003**) CA 139:292151.

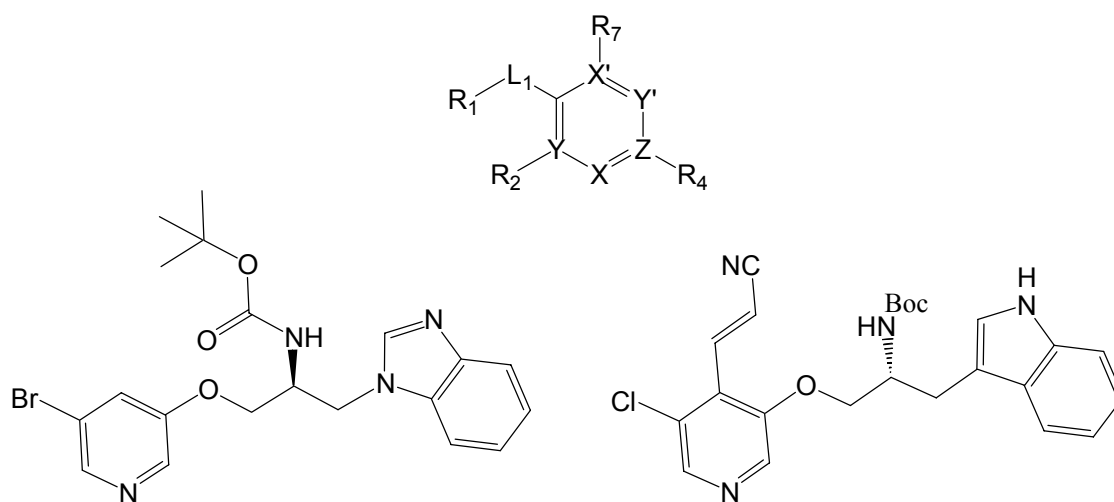


Figure 92 : Structure générale et deux exemples.

Les composés ont été testés sur la Chk1 mais les résultats ne sont pas donnés dans le brevet.

Stavenger *et al.*⁶⁰ décrivent la synthèse de pyrrolo[2,3-*b*]pyridine en tant qu'inhibiteur de la Chk1.

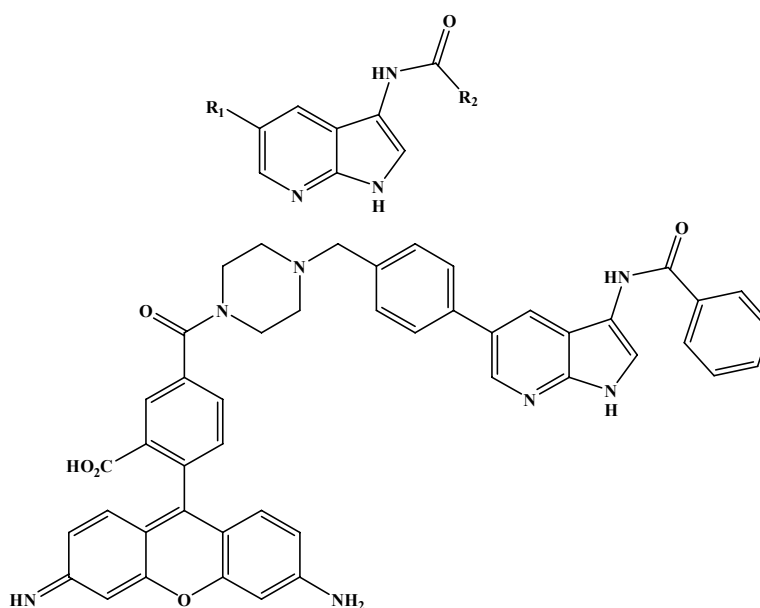


Figure 93 : Structure générale de type pyrrolo[2,3-*b*]pyridine et un exemple.

L'inhibition de l'arrêt en G2 a été étudiée sur une lignée de cellules Hela S3. Les cellules sont traitées au topotécan avec une concentration de 50 nM induisant l'arrêt en G2. Les inhibiteurs de la Chk1 seront identifiés comme ceux qui inhiberont l'arrêt en G2. Les résultats ne sont pas décrits dans le brevet.

⁶⁰ Stavenger R. A. ; Witherington J. ; Rawling D. A. ; Holt D. A. ; Chan G. WO03/028724 (2003) CA 138:304265.

Des composés de type benzimidazoloquinolinone (**Figure 94**) ont été décrits par la Chiron Corporation⁶¹ comme inhibiteurs potentiels de la Chk1. Les benzimidazoloquinolinones sont connues comme étant des inhibiteurs non sélectifs de kinases.

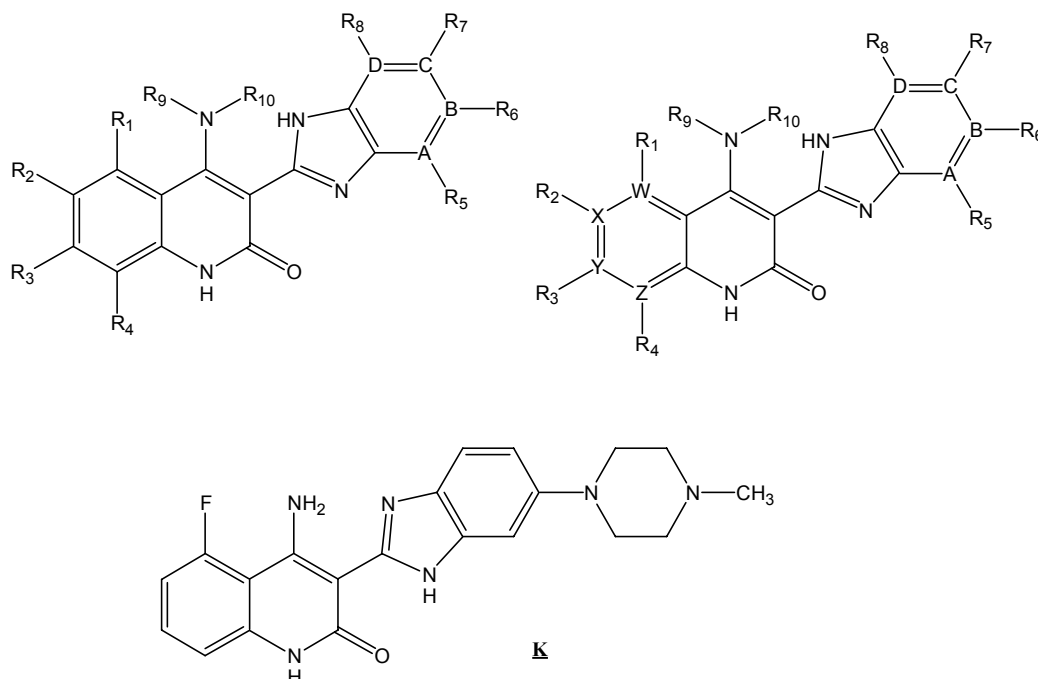


Figure 94 : Structures des quinolones benzimidazoles et de la 4-amino-5-fluoro-3-[5-(4-méthylpipérazin-1-yl)-1H-benzimidazol-2-yl]quinolin-2(1H)-one K.

Dans cette série, une majorité de composés a des valeurs d'IC₅₀ inférieures à 10 µM sur de nombreuses kinases et plusieurs composés ont des IC₅₀ de l'ordre du nanomolaire. Néanmoins aucun détail n'est fourni quant aux activités sur la Chk1. Le composé K a été très largement étudié *in vivo*.

Rui *et al.*⁶² décrivent la synthèse de dérivés de carbamate, de structure générale suivante, capables de moduler l'activité de checkpoint kinases.

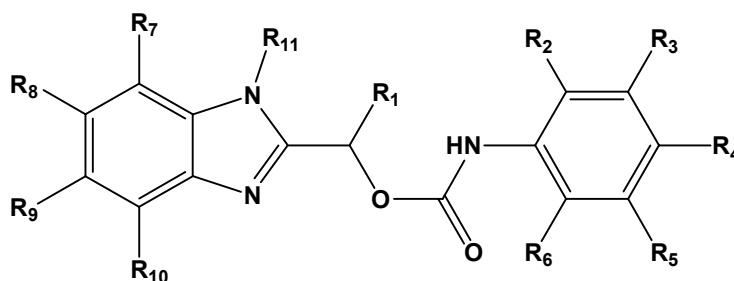


Figure 95 : Structure générale de dérivés de carbamate, revendiquée par Rui *et al.*

⁶¹ Barsanti P. A. ; Bussiere D. ; Harrison S. D. ; Heise C. C. Jansen J. M. ; Jazan E. ; Michajewski T. D. ; McBride C. ; McCrea JR. W. R. ; Ng S. ; Ni Z. ; Pecchi S. ; Pfister K. B. Ramurthy S. ; Renhowe P. A. ; Shafer C. M. ; Sliver J. B. ; Wagman A. S. Wiesmann M. US0092535 (2004) CA 140:235711.

⁶² Rui E. Y. ; Johnson JR. T. O. ; Kellum J. H. US0148643 (2005) CA 143:115539.

Plusieurs composés ont été synthétisés et testés sur la Chk1. Quelques exemples figurent dans le tableau ci-dessous (**Tableau 16**).

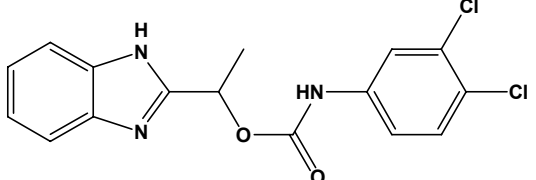
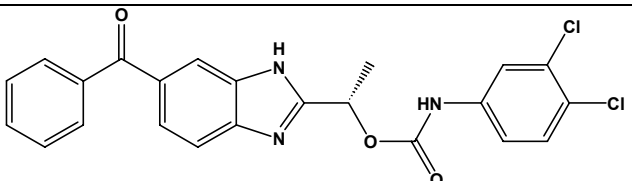
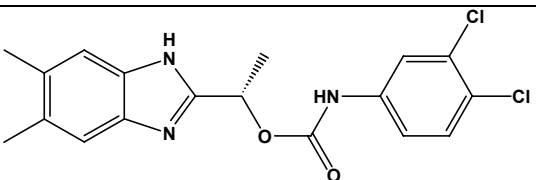
Composés	K _i (μM)
	B
	A
	C

Tableau 16 : Exemples de composés et leurs valeurs de K_i
A>10 μM, B= 1-10 μM, C<1 μM.

Parmi les dérivés hétérocycliques, des composés de type amino-phthalazinone (**Figure 96**), actifs sur les kinases ont été décrits par Pulici.⁶³ Ces composés sont considérés comme des inhibiteurs potentiels de la Chk1.

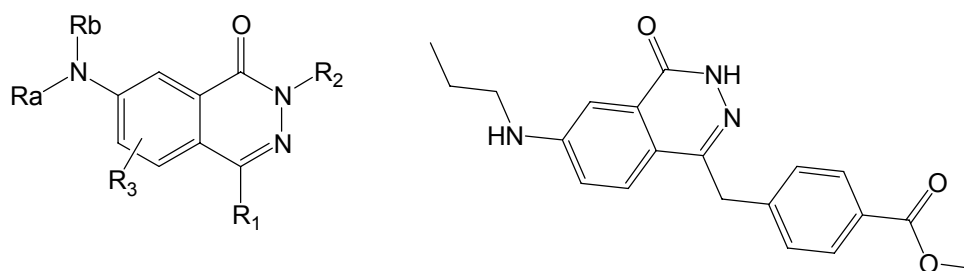


Figure 96 : Structure générale des aminophthalazinones et un exemple, inhibiteurs potentiels de la Chk1.

Vanotti *et al.* ont décrit des composés de type pyrimidylpyrrole⁶⁴ et pyridylpyrrole⁶⁵ comme inhibiteurs potentiels de la Chk1.

⁶³ Pulici M. US0020583 (**2005**) CA 138:170245.

⁶⁴ Vanotti E. ; D'Alessio R. ; Tibolla M. ; Varasi M. ; Montagnoli A. ; Santocanale C. ; Orsini P. ; Pillan A. US0043323 (**2005**) CA 142:240452.

⁶⁵ Vanotti E. ; D'Alessio R. ; Tibolla M. ; Montagnoli A. ; Santocanale C. ; Orsini P. ; Pillan A. US0043346 (**2005**) CA 142:240320.

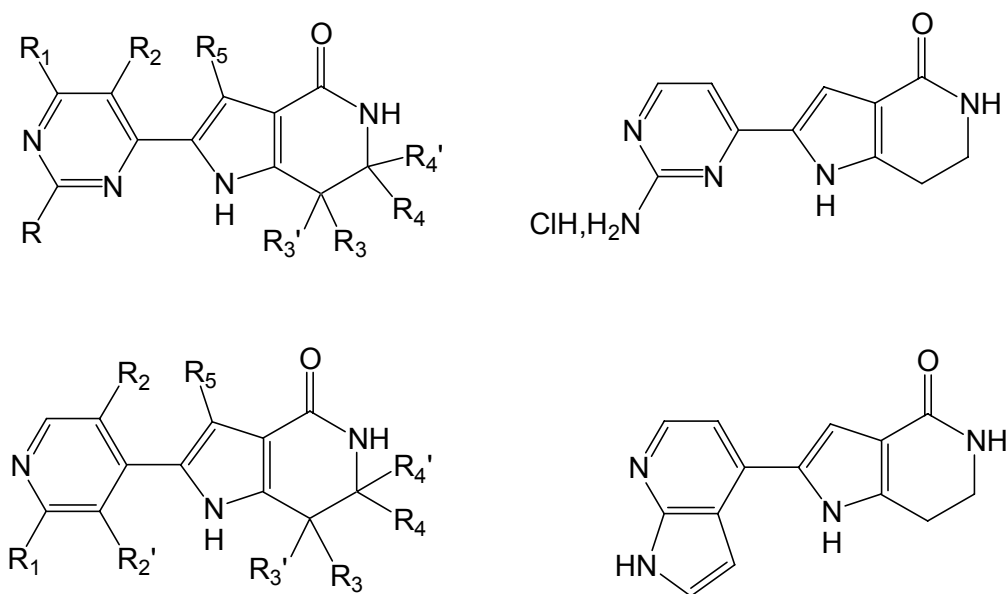


Figure 97 : Structures de type pyrimidylpyrrole et pyridylpyrrole revendiquées par Vanotti *et al.*, et deux exemples, inhibiteurs potentiels de la Chk1.

7. Inhibiteurs peptidiques et peptidomimétiques

Des peptides inhibiteurs de la Chk1 et de la Chk2 ont été développés, par exemple les TAT-S216 et TAT-S216A. Ces peptides correspondent à la fusion des aminoacides 211-221 de la Cdc25C humaine et d'une partie de HIV1-TAT. Ces peptides ont montré *in vitro* un pouvoir inhibiteur sur le point de contrôle en G2 induit par radiation ionisante et par traitement au cisplatine, et tout particulièrement sur les cellules de leucémie de Jurkat et des carcinomes de cellules pancréatiques. Ils inhibent directement les kinases Chk1 et/ou Chk2.^{4,5,12,66,}

La synthèse de plusieurs autres peptides ou peptidomimétiques a récemment été décrite.⁶⁷ Ces composés ont montré des activités inhibitrices sur le point de contrôle en G2, sur la Chk1 et la Chk2 (**Tableau 17**).

⁴ Kawabe T. *Mol. Cancer Ther.*, **2004**, 513-519.

⁵ Sampath D. ; Plunkett W. *Curr. Opin. Oncol.*, **2001**, 13, 484-490.

¹² Sorensen C. S. ; Syljuansen R. G. ; Falck J. ; Schroeder T. ; Rönnstrand L. ; Khanna K. K. ; Zhou B-B. ; Bartek J. ; Lukas J. *Cancer Cell.*, **2003**, 3, 247.

⁶⁶ Suguma M. ; Takawabe T. ; Hori H. ; Funabiki T. ; Okamoto T. *Cancer Res.*, **1999**, 59, 5887-5891.

⁶⁷ Kawabe T. ; Kobayashi H. US 0248783 (**2004**) CA 139:391326.

Composés	Séquences	Chk1	Chk2
<u>L1</u>	(d-Tyr)(d-Bpa)(d-Ser)(d-Trp)(d-Ser)(d-Phe-2,3,4,5,6-F)(d-Cha)(d-Arg)(d-Arg)(d-Arg)(d-Gln)(d-Arg)(d-Arg)	5,6	8
<u>L2</u>	(d-Bpa)(d-Ser)(d-Trp)(d-Ser)(d-Phe-2,3,4,5,6-F)(d-Cha)(d-Arg)(d-Arg)(d-Arg)(d-Gln)(d-Arg)(d-Arg)	7,9	18,6
<u>L3</u>	(d-Bpa)(d-Asp)(d-Ser)(d-Trp)(d-Ser)(d-Phe-2,3,4,5,6-F)(d-Cha)(d-Arg)(d-Arg)(d-Arg)(d-Gln)(d-Arg)(d-Arg)	63,4	>100
<u>L4</u>	(d-Bpa)(d-Ser)(d-Trp)(d-Ser)(d-Asp)(d-Phe-2,3,4,5,6-F)(d-Cha)(d-Arg)(d-Arg)(d-Arg)(d-Gln)(d-Arg)(d-Arg)	37,6	67
<u>L5</u>	(d-Bpa)(d-Ser)(d-Trp)(d-Ser)(d-Phe-4-NO ₂)(d-Cha)(d-Arg)(d-Arg)(d-Arg)(d-Gln)(d-Arg)(d-Arg)	15,5	18,1

**Tableau 17 : IC₅₀ sur les Chk1 exprimées en μ M.
(Bpa : benzoyl-phénylalanine ; Cha : cyclohexyl-alanine)**

Ces composés inhibent les kinases Chk1 et Chk2 à des concentrations plus élevées que celles nécessaires pour l'inhibition du point de contrôle en G2 ($IC_{50} < 1 \mu M$).

8. Structures aromatiques non-hétérocycliques

Une famille de composés a été décrite par Kawabe et Kobayashi.⁶⁸ Il s'agit d'inhibiteurs du point de contrôle en G2.

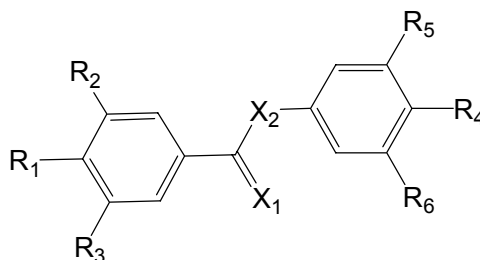


Figure 98 : Structure générale.

⁶⁸ Kawabe T. ; Kobayashi H. US0198727 (2004) CA 140:23229.

Les valeurs des IC_{50} sur le point de contrôle en G2 ont été déterminées. Les IC_{50} varient de 64 μM à 1 μM . Les composés ont été testés sur une lignée cellulaire dérivée de cellules humaines de T-leucémie (cellules de Jurkat). Quelques résultats figurent ci-dessous (**Figure 99**).

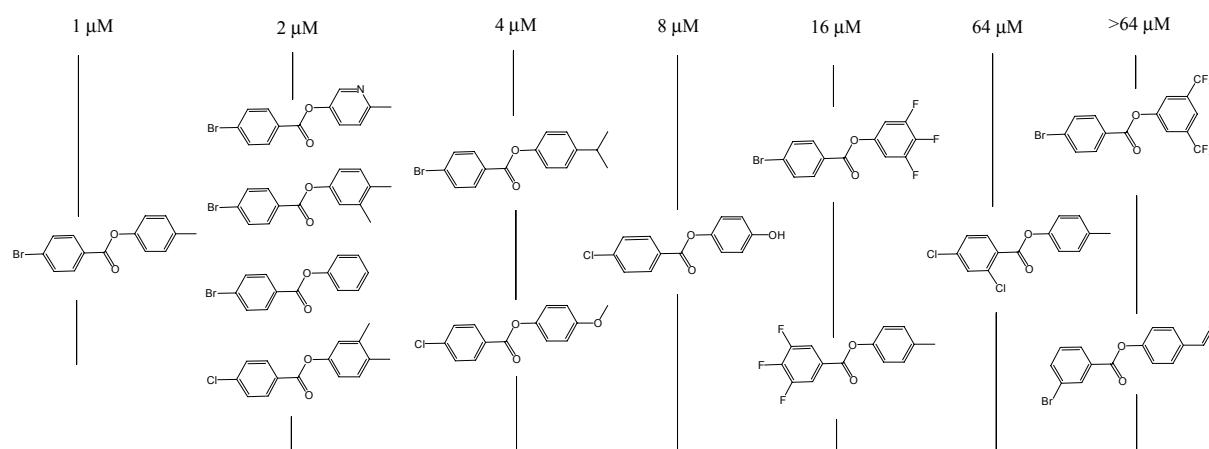


Figure 99 Exemples d' IC_{50} sur le point de contrôle en G2 sur cellules de Jurkat.

Même si le mode d'inhibition n'a pas été décrit par les auteurs, il est possible que cette activité soit due à l'inhibition de la Chk1.

V. CONCLUSION

Ces dernières décennies ont vu des progrès spectaculaires dans la compréhension des mécanismes moléculaires qui régulent le cycle de division cellulaire. Les recherches fondamentales ont ainsi permis l'identification des grands régulateurs de ce processus et ont ainsi fourni des outils pour aborder certaines grandes maladies sous un aspect moléculaire. Il est aujourd'hui clair que la plupart des cancers proviennent d'anomalies de régulation de la division cellulaire et/ou de l'apoptose (amplification des cyclines, des CDKs, mutation de p53, des kinases ATM ou Chk2). Ces observations conduisent maintenant à considérer les régulateurs du cycle cellulaire comme des cibles privilégiées pour la conception d'agents antitumoraux.

Deuxième partie

RÉSULTATS ET DISCUSSION

SYNTHÈSE D'ANALOGUES DE LA GRANULATIMIDE

Introduction

Nous nous sommes intéressés à la synthèse d'analogues de la granulaticide dont l'hétérocycle imidazole a été remplacé par un maléimide (**Figure 100**). Le composé **1**, déjà synthétisé au laboratoire par Bernadette Hugon⁶⁹, représente le composé de référence de ce travail.

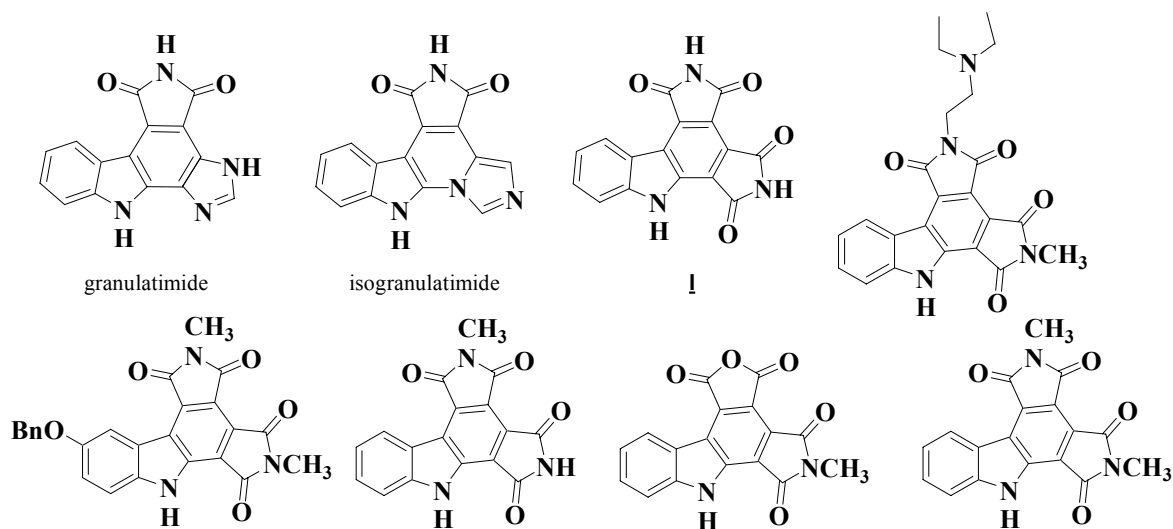


Figure 100 : Structures de la granulaticide, de l'isogranulaticide, du composé 1 et de quelques exemples d'analogues synthétisés auparavant au laboratoire.^{69,70}

Plusieurs analogues ont également été synthétisés au laboratoire.^{69,70} Ils sont en général très insolubles dans l'eau et les solvants organiques, ce qui pose des problèmes de biodisponibilité, de réactivité chimique mais aussi pour la réalisation des tests biologiques.

Dans le but d'approfondir l'étude de relations structure-activité, de déterminer les éléments structuraux clés nécessaires à l'activité biologique et d'accéder à des composés plus solubles, nous avons effectué la synthèse d'autres analogues du composé **1**.

Pour cela plusieurs modifications structurales ont été explorées, faisant appel à des voies de synthèse spécifiques qui seront développées dans les trois chapitres suivants (**Figure 101**) :

- poursuivre la modification des hétérocycles imidiques D et E, comme cela avait déjà été commencé lors de la thèse de Bernadette Hugon,^{69,70}
- accès à des analogues diversement substitués sur le cycle A soit en partant des indoles commerciaux⁷⁰ ou soit par couplage pallado-catalysé,

⁶⁹ Hugon B. ; Pfeiffer B. ; Renard P. ; Prudhomme M. *Tetrahedron Lett.*, **2003**, 44, 3935-3937.

⁷⁰ Hénon H. ; Messaoudi S. ; Hugon B. ; Anizon F. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *Tetrahedron*, **2005**, 61, 5599-5614.

- introduction de groupements solubilisants de type sucre ou acide aminé sur l'azote indolique (cycle B),
- synthèse de l'isostère du composé **1** possédant un 7-azaindole (X = N, **Figure 101**).⁷⁰

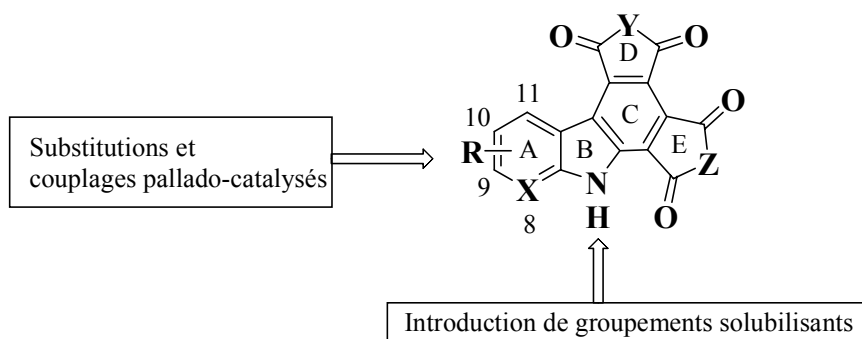


Figure 101 : Modifications structurales envisagées autour du composé **1.**

⁷⁰ Hénon H. ; Messaoudi S. ; Hugon B. ; Anizon F. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *Tetrahedron*, **2005**, 61, 5599-5614.

Chapitre I : SYNTHESE D'ANALOGUES DU COMPOSÉ I

Remarque : Les composés déjà décrits dans la littérature seront notés par des lettres, comme dans la partie bibliographique. La numérotation en chiffre romain sera utilisée pour les composés déjà synthétisés au laboratoire. La numérotation en chiffre arabe sera utilisée pour les composés synthétisés au cours de ce travail.

I. Introduction

Au cours de sa thèse, Bernadette Hugon a mis au point une synthèse rapide du composé I en quatre étapes, en s'inspirant des travaux de Bergman *et al.*^{71,72} (Figure 102).

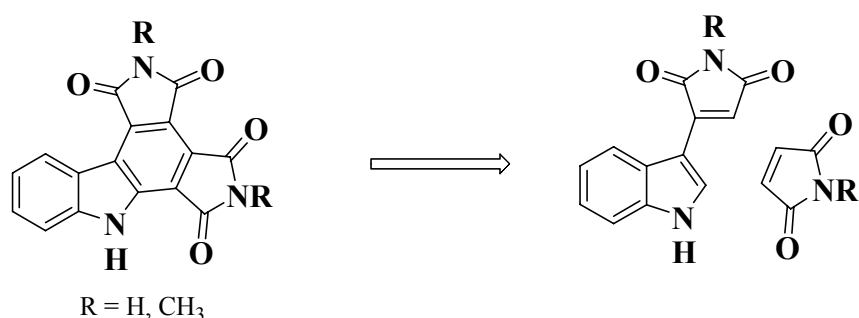


Figure 102 : Schéma rétrosynthétique des bis-maléimides.

Bergman *et al.*⁷¹ décrivent les trois premières étapes. La première est une réaction de Michaël par mélange équimolaire de maléimide et d'indole chauffé à reflux dans l'acide acétique glacial. L'indolylsuccinimide est ensuite facilement oxydé par le DDQ dans le dioxane à température ambiante.

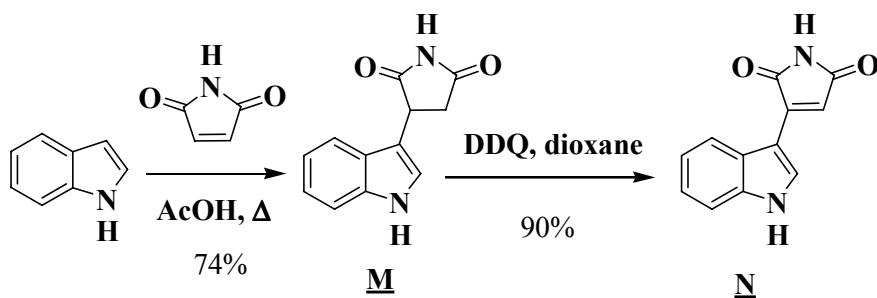


Figure 103 : Préparation de l'indolylsuccinimide et du composé oxydé correspondant.

La réaction de cycloaddition de Diels-Alder est effectuée entre le diène ainsi obtenu et le maléimide pour conduire à l'un des isomères, indole ou indoline selon le traitement effectué.⁷¹

⁷¹ Bergman J. ; Janosik T. ; Koch E. ; Pelcman B. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I.*, **2000**, 2615-2621.

⁷² Bergman J. ; Desarbre E. ; Koch E. ; *Tetrahedron*, **1999**, 55, 2363-2370.

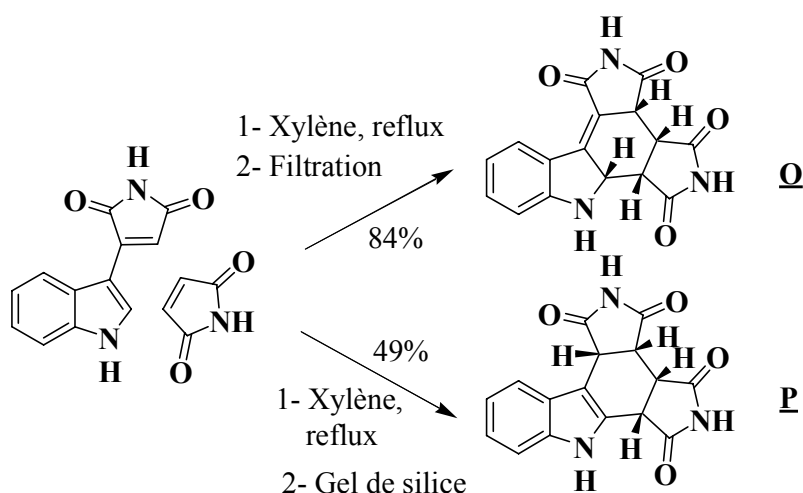


Figure 104 : Réaction de Diels-Alder.

L'aromatisation des isomères s'effectue selon la méthode utilisée par Chilsholm *et al.*⁷³ pour la préparation de bis-indolylmaléimides, par une double oxydation au DDQ dans le dioxane à reflux, conduisant au composé **1** avec un rendement de 60%.

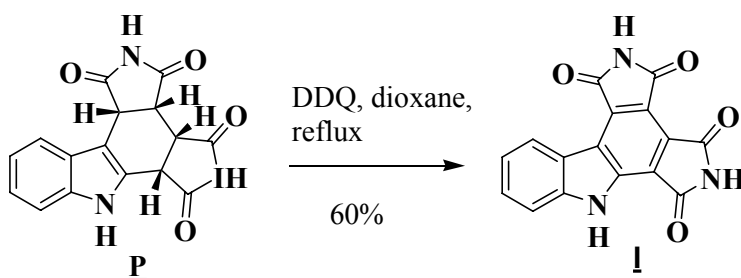


Figure 105 : Aromatisation au DDQ.

Le bis-imide **1** est particulièrement insoluble dans tous les solvants organiques y compris le diméthylsulfoxyde, ce qui entraîne des problèmes de réactivité, de traitement et de purification.

Nous allons développer dans une première partie la synthèse de plusieurs analogues du composé **1** selon la voie de synthèse décrite ci-dessus afin d'élaborer une chimiothèque pour l'étude de relation structure-activité. Ceci nous permettra d'évaluer l'influence des modifications structurales sur la solubilité ainsi que sur l'activité biologique.

Nous nous sommes intéressés dans un premier temps à la modification des hétérocycles imidiques D et E, puis dans un second temps à la synthèse de bis-imides, pour lesquels les azotes imidiques sont libres, et le cycle A substitué.

⁷³ Chilsholm J. D. ; Van Vranken D. L. *J. Org. Chem.*, **2000**, 65, 7541-7553.

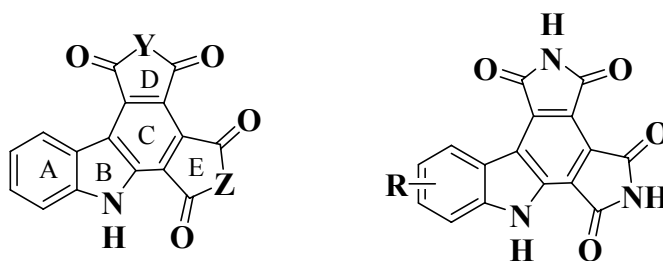


Figure 106 : Premières modifications structurales apportées au composé **1**.

II. Modification des cycles D et E

Bernadette Hugon a effectué au cours de sa thèse la synthèse de quatre composés dont les imides sont modifiés (**Figure 107**) par rapport au composé **1**, par substitution de(s) azotes imidique(s) par un groupement méthyle ou diéthylaminoéthyle (composés **II**, **III** et **V**), ou par remplacement du cycle D par un anhydride (composé **IV**).

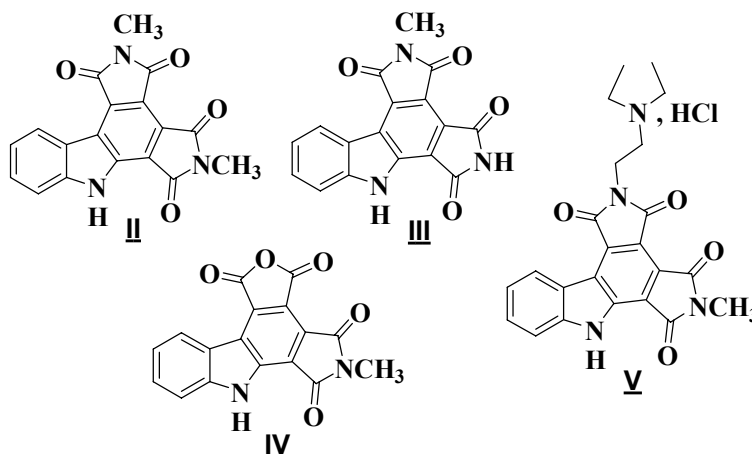


Figure 107 : Analogues du composé **1** avec les hétérocycles imidiques D et E modifiés.

Nous avons complété cette série en effectuant la synthèse de 3 nouveaux composés (**Figure 108**) en appliquant la synthèse en quatre étapes déjà mise au point :

- le composé **1** dont l'hétérocycle E est remplacé par un anhydride,
- le composé **2** avec un cycle E de type anhydride, l'azote imidique du cycle D étant substitué par un groupement méthyle,
- et le composé **3** substitué sur l'azote imidique du cycle E par un méthyle.

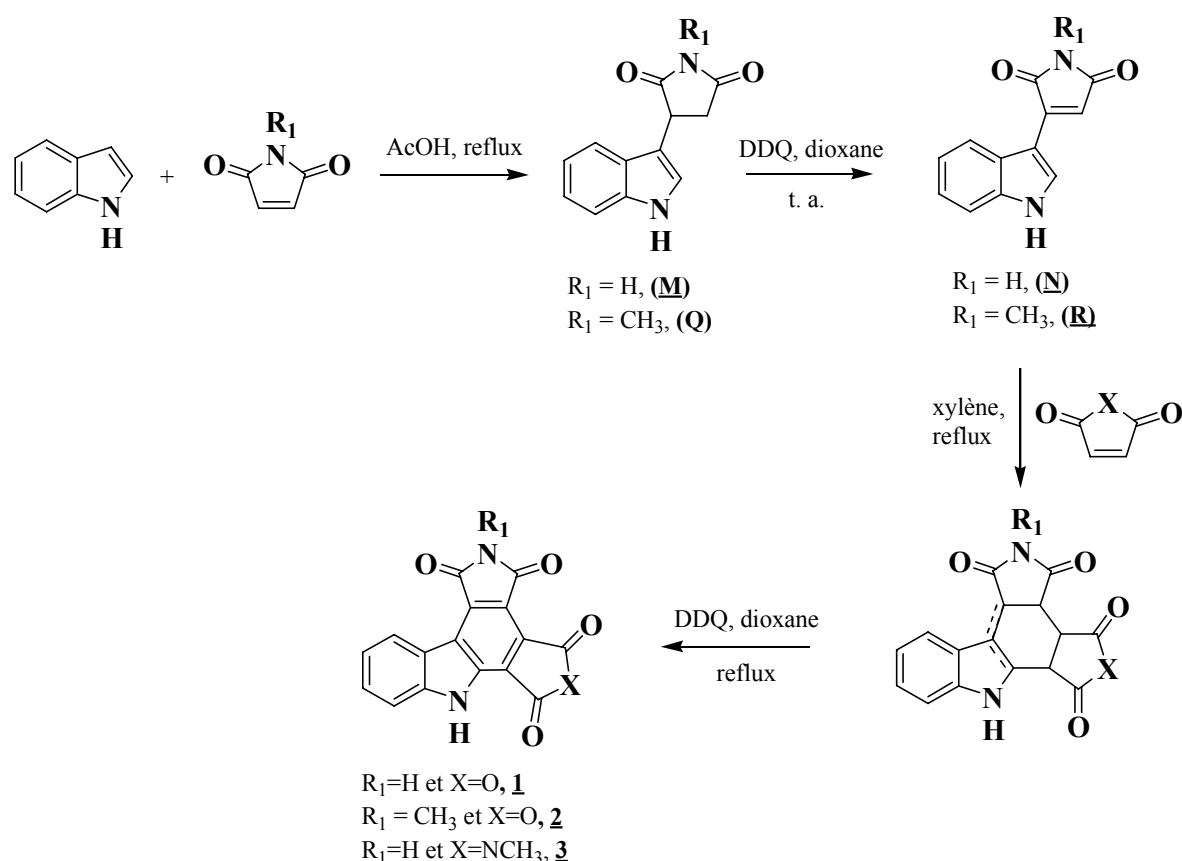


Figure 108 : Schéma de synthèse des composés dont les imides ont été modifiés.

Les composés M, N, Q et R sont déjà décrits dans la thèse de Bernadette Hugon. Le produit de Diels-Alder peut être obtenu sous la forme d'un mélange d'isomères indoline/indole, qui est directement engagé dans la réaction d'oxydation.

Les composés 1, 2, 3 sont obtenus avec des rendements respectifs sur les quatre étapes de 51%, 25% et 40%.

A partir des composés 1 et 2 qui comportent un anhydride, nous avons envisagé la synthèse des dérivés bis-imides substitués sur l'azote du cycle E par le groupement diéthylaminoéthyle, analogues du composé V, en utilisant une méthode déjà employée au laboratoire pour la synthèse d'analogues de la rébécamycine *N*-hydroxylés et -*N*-aminés sur l'azote imidique⁷⁴ et par Bernadette Hugon pour la préparation du composé V.

Le composé 2 a été mis en réaction avec de la *N,N*-diéthylaminoéthylènediamine commerciale à reflux dans le THF pendant 60 heures. Au cours du traitement, lors de l'extraction acido-basique, un produit précipite à l'interface. Il s'agit vraisemblablement de l'intermédiaire issu de l'attaque nucléophile de la *N,N*-diéthylaminoéthylènediamine sur l'anhydride (**Figure 109**).

⁷⁴ Marminon C. ; Anizon F. ; Moreau P. ; Léonce S. ; Pierré A. ; Pfeiffer B. ; Renard P. ; Prudhomme M. *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 1330-1339.

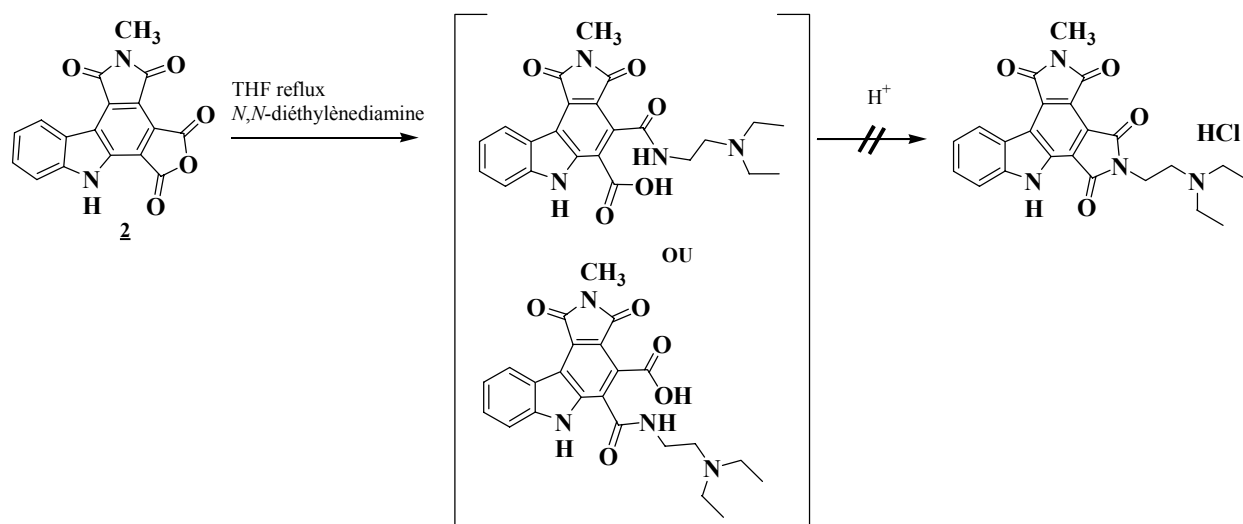


Figure 109 : Substitution du composé **2** avec la diéthylènediamine.

Cependant, malgré un traitement ultérieur acide, il n'a pas été possible d'obtenir le composé désiré.

Afin d'accéder au composé substitué, nous nous sommes inspirés des travaux de Kalgutkar *et al.*⁷⁵ décrivant une méthode permettant de préparer des imides *N*-substitués à partir de la forme intermédiaire ouverte qui est chauffée en présence d'acétate de sodium anhydre dans l'anhydride acétique anhydre pour permettre la cyclisation en imide. (Figure 110).

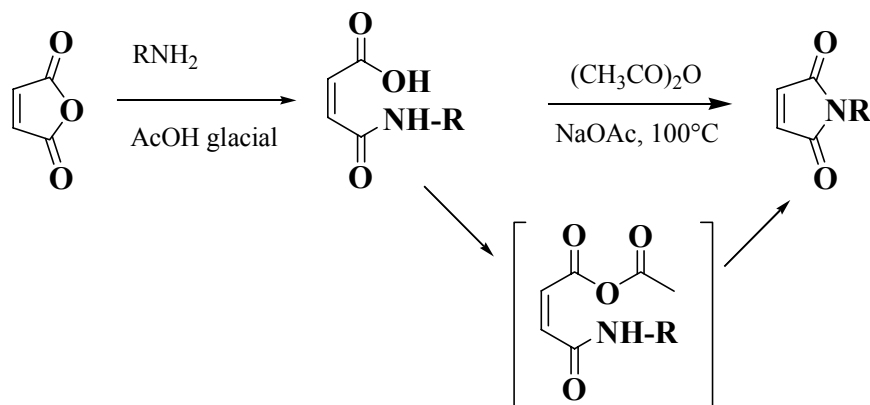
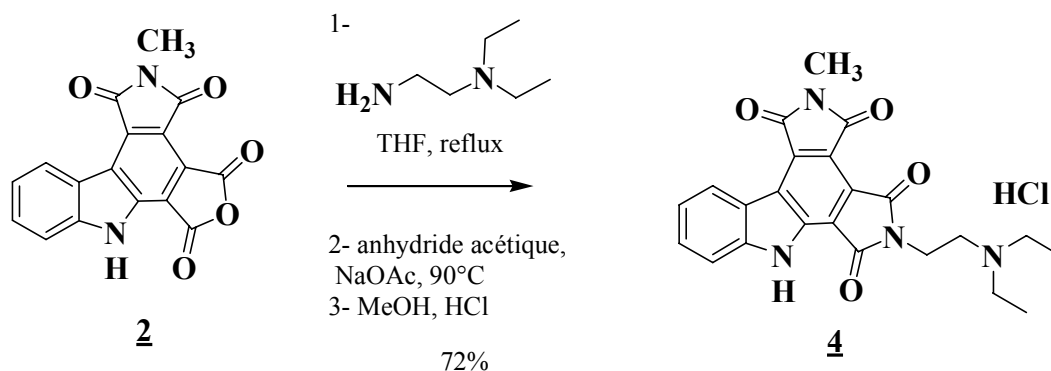


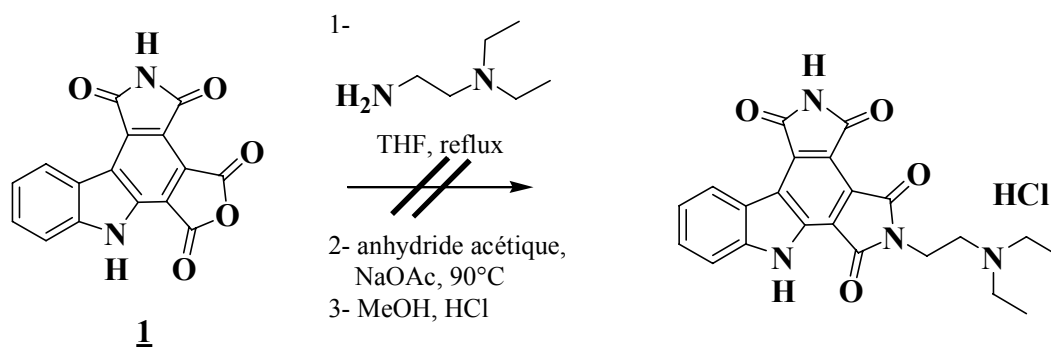
Figure 110 : Méthode de recyclisation de Kalgutkar *et al.*

L'application de cette méthode a permis d'obtenir le composé **4** avec 72% de rendement : après l'attaque nucléophile de l'amine sur le composé **2**, le milieu réactionnel a seulement été évaporé avant d'effectuer la cyclisation (Figure 111). Après traitement, le composé **4** a été isolé sous la forme de chlorhydrate.

⁷⁵ Kalgutkar A. S. ; Crews B. C. ; Marnett L. J. *J. Med. Chem.*, **1996**, 39, 1692-1703.

Figure 111 : Préparation du composé **4**.

Nous avons également voulu synthétiser l'analogue ayant le cycle imidique D non substitué à partir du composé **1**. Les conditions réactionnelles mises au point précédemment n'ont pas permis d'obtenir le composé désiré. Plusieurs essais ont été menés en jouant sur le nombre d'équivalents en sel de sodium et en anhydride acétique, mais aucun n'a permis d'obtenir le composé attendu. Il semblerait que la forme ouverte soit privilégiée et que la cyclisation ne soit pas favorable dans ce cas.

Figure 112 : Réaction du composé **1** avec la *N,N*-diéthylaminoéthylènediamine.

Nous avons alors envisagé une autre stratégie dans laquelle le diénophile serait le maléimide déjà substitué avec la chaîne diéthylaminoéthyle pour effectuer la réaction de Diels-Alder. Le diénophile désiré n'a pas pu être obtenu et par manque de temps nous n'avons pas pu effectuer d'autres essais, entre autres, en utilisant de l'anhydride acétique selon la méthode décrite plus haut.

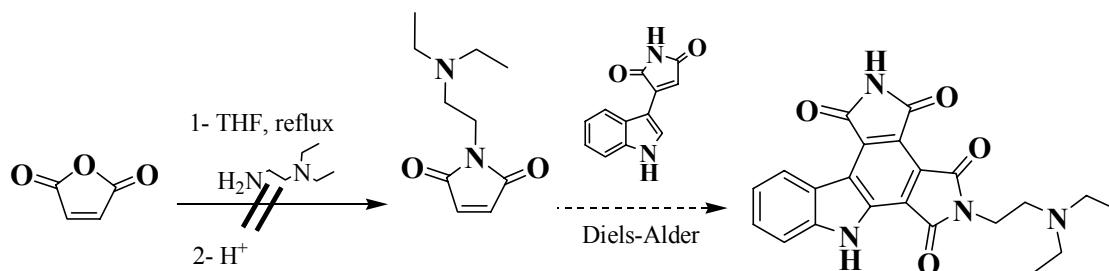


Figure 113 : Autre stratégie pour accéder à l'analogue substitué par la chaîne diéthylaminoéthyle.

III. Synthèse de bis-imides substitués sur le cycle A

Pour accéder aux bis-imides différemment substitués sur le cycle A, nous avons envisagé deux voies de synthèse :

- synthèse totale à partir des indoles commerciaux diversement substitués,
- substitution par couplage pallado-catalysé à partir d'intermédiaires halogénés.

A. Synthèse à partir des indoles commerciaux

Nous avons commencé cette série de façon classique à partir de plusieurs indoles commerciaux (Figure 114 et Tableau 18) selon la synthèse en quatre étapes décrites précédemment :

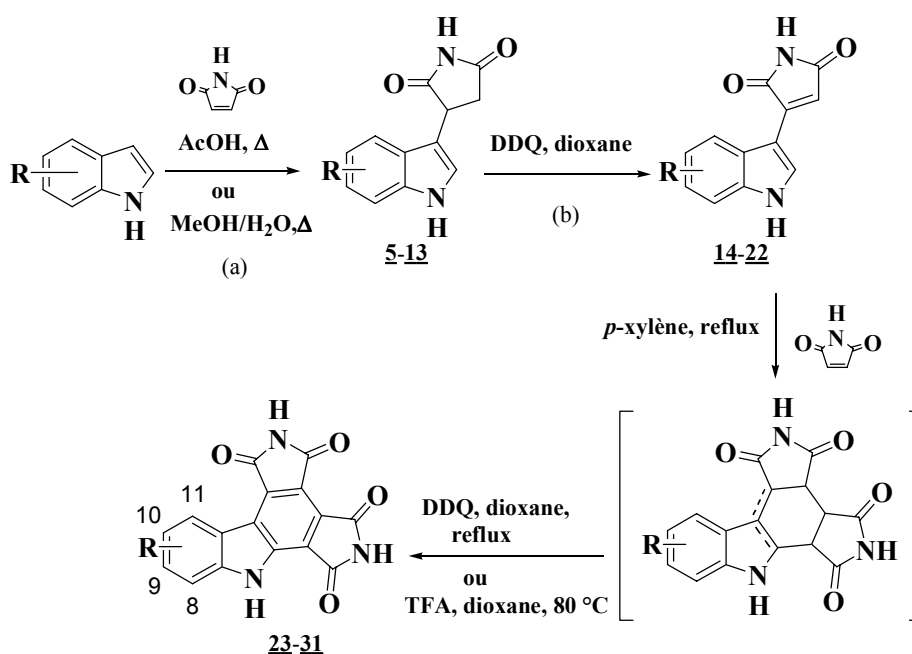


Figure 114 : Schéma de synthèse des composés substitués à partir d'indoles commerciaux.

R⁸	R⁹	R¹⁰	R¹¹	Etape (a)	Rdt %	Etape (b)	Rdt %	Composés finaux	Rdt %
H	H	H	OBn	<u>5</u>	51	<u>14</u>	82	<u>23</u>	3
H	H	OBn	<u>H</u>	<u>6</u>	39	<u>15</u>	90	<u>24</u>	72
OBn	H	H	H	<u>7</u>	40	<u>16</u>	93	<u>25</u>	60
H	H	F	H	<u>8</u>	40	<u>17</u>	82	<u>26</u>	85
H	H	Cl	H	<u>9</u>	25	<u>18</u>	56	<u>27</u>	48
H	H	Br	H	<u>10</u>	43	<u>19</u>	96	<u>28</u>	65
H	Br	H	H	<u>11</u>	45	<u>20</u>	90	<u>29</u>	80
H	H	I	H	<u>12</u>	48*	<u>21</u>	93	<u>30</u>	62**
H	H	CH₃	H	<u>13</u>	34	<u>22</u>	80	<u>31</u>	22**
H	H	NO₂	H	-	0	-	-	-	-
H	H	H	OH	<u>32</u>	<8	-	-	-	-

* 1:1 eau/méthanol à reflux **TFA, dioxane, 80 °C

Tableau 18 : Résultats des synthèses.

Dans l'acide acétique à reflux les adduits de Michaël **5** à **11** et le composé **13** sont obtenus avec des rendements de 25 à 51%. En ce qui concerne la réaction avec le 5-nitroindole, aucun produit n'a été obtenu probablement en raison du fort pouvoir électroattracteur du groupement nitro. Nous avons également effectué la synthèse du composé hydroxylé **32**. Celui-ci est obtenu avec un très faible rendement (< 8%), et une très mauvaise pureté (spectre de RMN). Ce mauvais rendement en comparaison avec l'analogue benzylé **5** (51%) suggère qu'un résultat comparable pourrait être obtenu avec les analogues hydroxylés dans les autres positions. Dans l'acide acétique à reflux, le 5-iodoindole n'a pas conduit au composé attendu. Plusieurs essais ont dû être réalisés dans différentes conditions afin d'accéder à l'adduit de Michaël **12** et au composé final **30**. Les détails de cette étude sont développés plus loin dans ce chapitre (paragraphe B-5). Le meilleur rendement pour la première étape a été obtenu avec un mélange 1:1 eau/méthanol en présence de 10 équivalents de maléimide, sous argon pendant 2,5 jours à reflux conduisant au composé **12** avec un rendement de 48%.

Les rendements d'oxydation pour les composés **5-13** sont compris entre 56% et 96% (composé **14-22**).

Les deux réactions suivantes ont été réalisées sans effectuer la caractérisation des produits de cycloaddition de Diels-Alder : après filtration sur fritté, lavage au xylène et séchage, les intermédiaires sont directement engagés dans la réaction de double oxydation au DDQ. Les rendements pour les deux étapes sont compris entre 3% et 85%. Le composé **23** est obtenu avec un rendement de 3%. La réaction de Diels-Alder du composé **14** avec le maléimide est très peu favorisée ; après 6 jours à reflux du xylène et ajout d'un équivalent supplémentaire de maléimide, le produit isolé n'est qu'un mélange de produit de départ et de l'adduit de Diels-Alder contenant seulement 31% de l'adduit de Diels-Alder (pourcentage établi d'après le spectre de RMN).

En ce qui concerne les composés méthylé **31** et iodé **30**, ceux-ci n'ont pas pu être obtenus dans les conditions d'oxydation au DDQ dans le dioxane à reflux. Nous n'avons observé que des produits de dégradation.

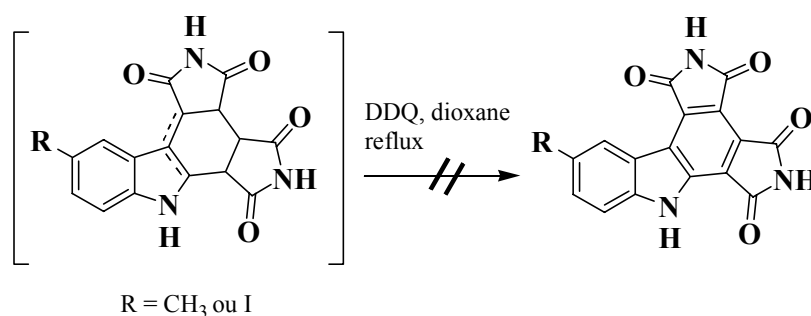


Figure 115 : Essais d'aromatisation au DDQ des composés méthylé et iodé.

L'oxydation a été effectuée dans le dioxane en présence de TFA. En effet au cours de sa thèse Bernadette Hugon avait observé l'aromatisation complète du composé **Q** dans ces conditions alors que Bergman *et al.*⁷¹ n'avaient observé qu'une isomérisation de l'indoline en indole.

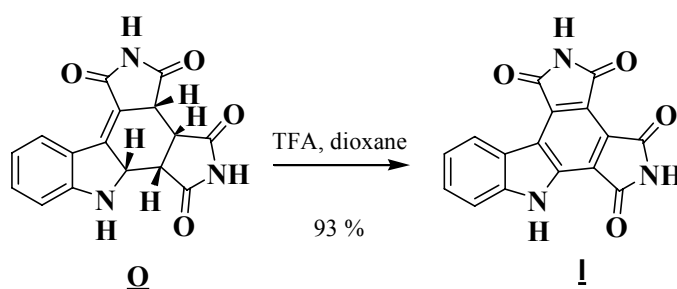


Figure 116 : Aromatisation au TFA du composé **Q** observé par Bernadette Hugon.

Le composé **31** est obtenu après aromatisation au TFA dans le dioxane à reflux avec un rendement de 22% et le composé **30** avec un rendement de 62%.

⁷¹ Bergman J. ; Janosik T. ; Koch E. ; Pelcman B. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I.*, **2000**, 2615-2621.

Pour obtenir les composés hydroxylés sur le cycle A, nous avons envisagé la débenzylation des composés **23**, **24** et **25**. Dans un premier temps, nous avons effectué deux essais de débenzylation du composé **24** : par hydrogénolyse en présence de palladium sur charbon à 10% à pression atmosphérique ou avec BBr_3 dans le dichlorométhane (**Figure 117**).

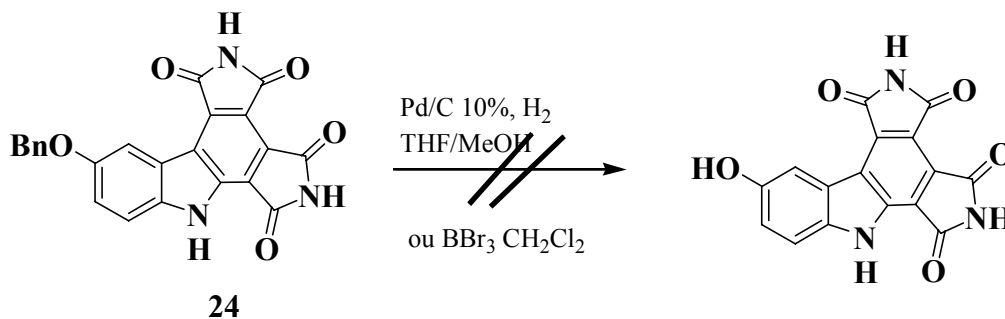


Figure 117 : Essais de débenzylation du composé **24**.

Les deux essais ont échoué probablement en raison de la faible solubilité du composé **24**. En effet, dans les deux conditions réactionnelles, le composé **24** est insoluble, la réaction n'est donc pas favorisée.

Nous avons alors envisagé la déprotection plus en amont dans la synthèse. Ainsi, le composé **6** a été soumis à une hydrogénolyse dans le méthanol en présence de palladium sur charbon 10% (**Figure 118**). Après filtration sur Célite et évaporation, le composé **33** est isolé et directement engagé dans la réaction d'oxydation au DDQ dans le dioxane à température ambiante. Le composé **34** est alors obtenu avec un rendement de 52% pour les deux étapes. Après réaction de Diels-Alder et la double oxydation finale, le composé **35** est obtenu avec un rendement de 74%.

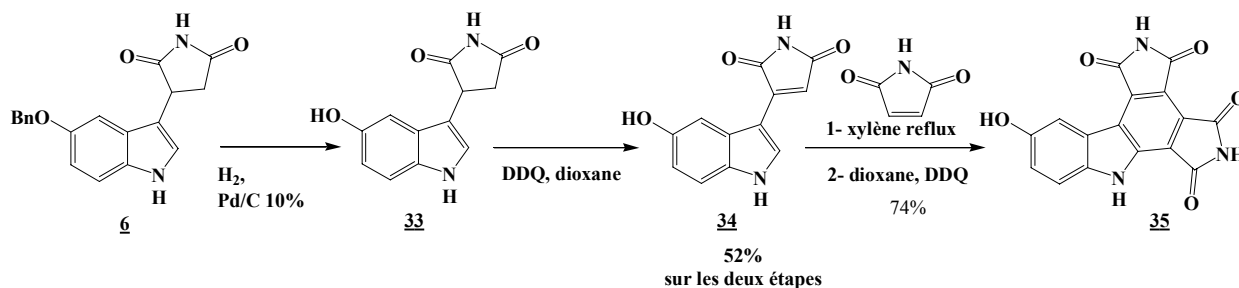


Figure 118 : Synthèse du composé **35**.

Nous avons alors engagé le composé **5** dans la même voie de synthèse afin d'accéder au composé final hydroxylé en position 11 (**Figure 119**). Le composé **32**, déjà isolé avec un faible rendement par réaction de Michaël en partant du 4-hydroxyindole commercial, est obtenu avec un rendement de 97% par hydrogénolyse du composé **5**. Cependant, la réaction suivante d'oxydation (DDQ, dioxane) n'a pas permis d'obtenir le composé désiré, la réaction ne conduisant qu'à des produits de dégradation non identifiés.

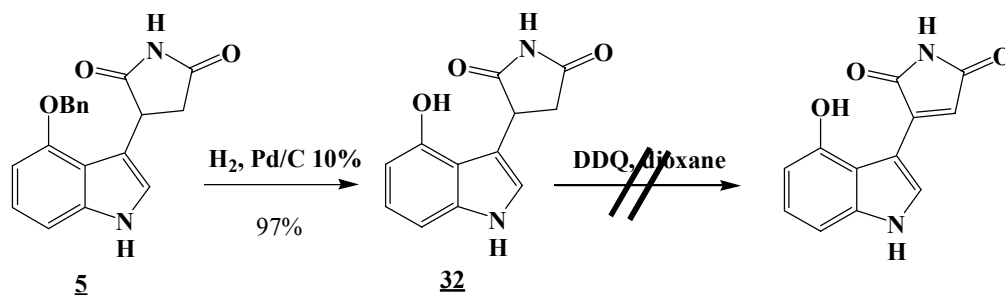


Figure 119 : Débenzylation et oxydation du composé 5.

Il se pourrait qu'une réaction de Michaël intramoléculaire se produise après oxydation entraînant la formation de produits instables.

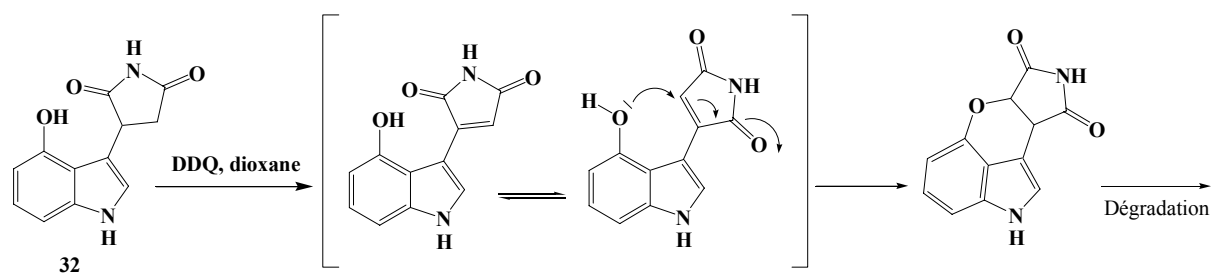


Figure 120 : Tentative d'explication de l'échec de la réaction d'oxydation sur le composé 32.

Le faible rendement (3%) pour la réaction de Diels-Alder de l'analogue benzylé 23, ne nous a pas incités à poursuivre dans cette voie.

Un stage d'un mois au sein des Laboratoires SERVIER a permis d'étoffer cette chimiothèque par synthèse parallèle en solution.

L'utilisation des micro-ondes a été envisagée pour les étapes des réactions de Michaël et de Diels-Alder afin de réduire les temps de réaction généralement longs pour ces deux étapes.

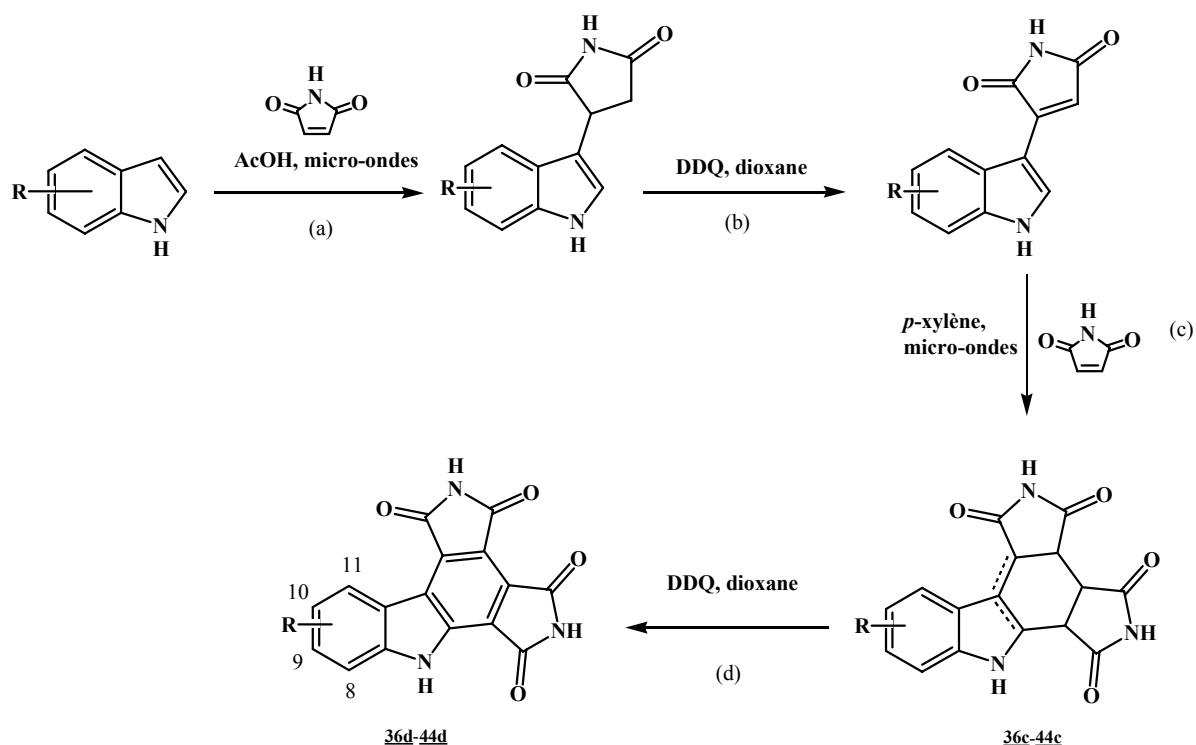


Figure 121 : Les étapes de synthèse parallèle en solution.

Nous avons ainsi engagé 16 indoles commerciaux diversement substitués (**Tableau 19**) et nous leur avons tous appliqué la même stratégie de synthèse. Seuls les temps de réaction et le nombre d'équivalents en réactif ont été modulés en fonction des résultats observés à chaque étape (réactions suivies par H.P.L.C.). Etant donné qu'il s'agit d'une synthèse en parallèle, seuls les composés finaux ont été décrits. Les intermédiaires ont seulement été analysés par LC-MS afin de vérifier pour chaque étape, la structure et la pureté des composés isolés.

La réaction de Michaël sous micro-ondes a permis d'abaisser les temps de réaction à 1 heure dans la majorité des cas, au lieu des 24 heures en synthèse normale. La réaction de Diels-Alder a été aussi effectuée en 1 heure au lieu des 24 heures minimum nécessaires sans l'utilisation de four micro-ondes (**Tableau 19**).

Afin de comparer les méthodes, synthèse sous micro-ondes et synthèse normale, nous avons voulu retenter la synthèse pour les composés hydroxylés que nous n'avions pas réussi à obtenir en synthèse normale (soit les OH en position 8, 9 et 11). Nous avons envisagé la même stratégie que pour le composé **35** (**Figure 118**) : réaction de Michaël avec les composés benzyloxyindoles puis débenzylation. Les résultats sont décrits dans les tableaux suivants (**Tableaux 19, 20 et 21**).

Composés	R8	R9	R10	R11	T °C temps (h) étape (a)	Rdt% étape (a)	Rdt% étape (b)	temps (h) étape (c)	Rdt % étape (c)
36c	H	OH	H	H	1	89	nd	1	nd
37c	H	H	OMe	H	1	69	65	1	70
38c	H	H	H	OMe	1.5	84	nd	5	21
39c	H	F	H	H	3.3	78	nd	1	52
40c	H	Cl	H	H	4	50	nd	1	82
41c	CH₃	H	H	H	1	67	nd	1	51
42c	H	CH₃	H	H	1	89	nd	1	80
43c	H	H	CO₂Me	H	7	73	nd	1	88
44c	H	-O-CH₂-O-		H	1	84	65	1	nd

Tableau 19 : Résultats pour les étapes (a), (b) et (c).

On remarque que par rapport aux synthèses réalisées dans les conditions classiques, les rendements pour l'étape de la réaction de Michaël (étape a) sont globalement supérieurs : ils sont compris entre 89% et 50% alors qu'ils étaient compris entre 25% et 51% en synthèse normale. L'utilisation des micro-ondes favorise la réaction et diminue les temps de réaction évitant ainsi d'éventuelles dégradations.

Les produits issus de la réaction d'oxydation suivante (étape b) sont isolés par lyophilisation ce qui a empêché dans la majorité des cas le calcul du rendement (excès de masse).

L'étape suivante de cycloaddition de Diels-Alder (étape c) s'est effectuée sous micro-ondes pendant une heure, sauf pour le composé **38c** qui a nécessité 5 heures de réaction. Les rendements qui ont été déterminés sont compris entre 21% et 88%.

Pour la dernière étape d'aromatisation, la synthèse des composés **37d** et **44d** a été achevée dans les Laboratoires SERVIER à 80 °C dans le dioxane en présence de DDQ. Les autres synthèses ont été réalisées au laboratoire dans les conditions classiques d'oxydation au DDQ dans le dioxane à reflux (les composés **36d**, **38d**, **39d**, **40d** et **43d**). En ce qui concerne les composé méthylés **41d** et **42d**, sachant que la méthode précédente dégrade nos produits (composé **31**, **Figure 115**), nous avons appliqué la méthode au TFA au composé **41d** et l'oxydation au DDQ à température ambiante pour le composé **42d**.

Les rendements pour cette dernière étape sont compris entre 23% et 65%.

Composés	R8	R9	R10	R11	étape (d) conditions.	Rdt%
36d	H	OH	H	H	DDQ reflux 60h	33
37d	H	H	OMe	H	DDQ 80°C, 55h	38
38d	H	H	H	OMe	DDQ reflux 60h	65
39d	H	F	H	H	DDQ reflux 60h	23
40d	H	Cl	H	H	DDQ reflux 60h	51
41d	CH₃	H	H	H	TFA 13 éq dioxane reflux 72h	27
42d	H	CH₃	H	H	DDQ t.a., 24h	31
43d	H	H	COOMe	H	DDQ reflux 60h	31
44d	H	-OCH₂O-		H	DDQ 80°C, 55h	59

Tableau 20 : Résultats de l'étape d'oxydation.

La synthèse de plusieurs composés n'a cependant pas abouti. Certaines étapes ayant échoué (Tableau 21).

R8	R9	R10	R11	Étape qui a échoué
OH	H	H	H	(c)
Br	H	H	H	(c)
H	OMe	OMe	H	(d)
H	H	NH₂	H	(a)
H	H	H	OH	(a)
H	H	H	F	(c)
H	H	H	Cl	(c)

Tableau 21 : Composés dont la synthèse n'a pas abouti.

Néanmoins, nous disposons maintenant d'une chimiothèque de composés obtenus par synthèse normale ou parallèle, substitués dans plusieurs positions du cycle A par différents groupements. Cependant, la solubilité de ces composés est en générale faible. C'est pour cette raison qu'un certain nombre de spectres de RMN ¹³C de composés préparés n'ont pas pu être enregistrés. Les tests d'activité biologique n'ont également pas pu être effectués avec les composés les plus insolubles.

Afin de pallier éventuellement les problèmes de solubilité et d'ajouter d'autres composés à notre chimiothèque en vue d'une étude de relations structure-activité, nous avons introduit, par couplages pallado-catalysés, différentes chaînes saturées ou non sur le cycle A en position 10.

B. Synthèse de composés substitués sur le cycle A par couplage pallado-catalysé

Nous avons envisagé l'introduction de chaînes saturées et insaturées, lipophiles ou hydrophiles, ceci dans le but d'augmenter l'activité biologique et la solubilité dans l'eau dans le cas des chaînes hydrophiles. Les substitutions ne seront effectuées qu'en position 10.

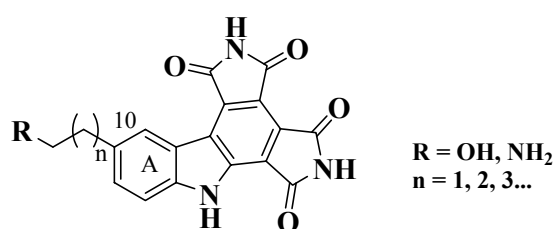


Figure 122 : Structures des composés envisagés.

Ces chaînes vont être introduites selon deux types de couplages pallado-catalysés : les réactions de Sonogashira et de Heck. Plusieurs stratégies sont alors envisageables : soit le couplage est effectué au début sur l'indole, soit en fin de synthèse.

1. Couplage à partir du 5-iodoindole

Afin de bénéficier de la meilleure réactivité pour la réaction de couplage pallado-catalysé, nous avons effectué nos premiers essais à partir du 5-iodoindole.

a) Introduction d'un groupement éthyle

Le 5-éthylindole est un produit commercial mais de coût très élevé. Pour accéder au 5-éthylindole, nous avons effectué la réaction de couplage du 5-iodoindole selon une réaction de Sonogashira avec le triméthylsilylacétylène en nous inspirant des travaux de Balle *et al.* sur un dérivé du 5-bromoindole (Figure 123).⁷⁶

⁷⁶ Balle T. ; Perragaard J. ; Ramirez M. T. ; Larsen A. K. ; Soby K. K. ; Liljefors T. ; Andersen K. *J. Med. Chem.*, **2003**, *46*, 265-283.

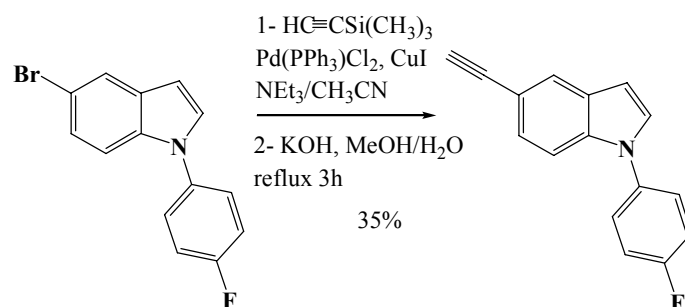


Figure 123 : Couplage du triméthylsilylacétylène selon Balle *et al.* sur un dérivé de 5-bromoindole.

Après purification du brut réactionnel, le composé **45** est isolé avec un rendement non-optimisé de 46%.

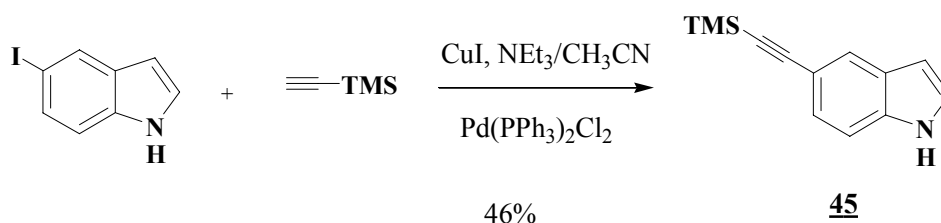


Figure 124 : Couplage d'un groupement triméthylsilylacétylène sur le 5-iodoindole.

Nous avons alors poursuivi la synthèse par la déprotection du composé **45** dans un mélange eau/méthanol à reflux en présence de potasse.⁷⁶ Malheureusement, cette méthode ne nous a pas permis de récupérer le produit déprotégé désiré. Nous n'avons observé que des produits de dégradation, pouvant être dûs au fait que l'azote indolique n'est pas protégé.

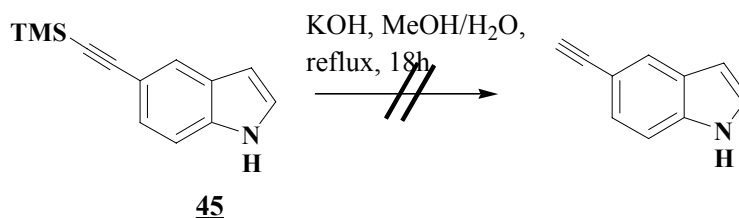
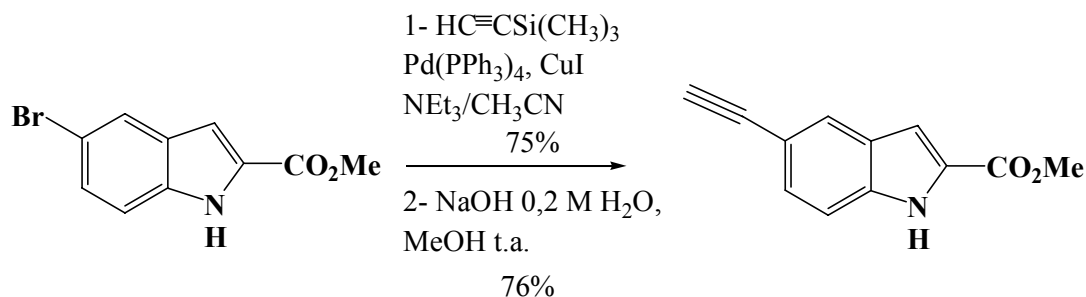


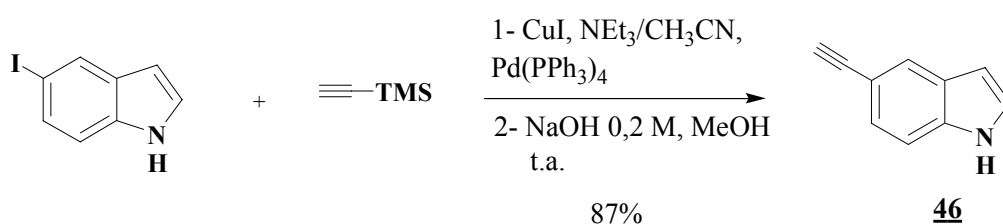
Figure 125 : Essai de déprotection du composé **45**.

Les travaux de Fukuda *et al.*⁷⁷ décrivent le couplage du triméthylsilylacétylène sur un dérivé du 5-bromoindole, directement suivi de la déprotection de l'alcyne par une solution de NaOH 0,2 M aqueux dans le méthanol à température ambiante (Figure 126).

⁷⁷ Fukuda Y. ; Furuta H. ; Kusama Y. ; Ebisu H. ; Oomori Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1998**, 8, 1387-1390.

Figure 126 : Couplage et déprotection selon Fukuda *et al.*

Nous avons donc effectué la réaction de couplage et la déprotection dans les mêmes conditions que Fukuda *et al.* et le composé **46** est isolé avec un rendement de 87%.

Figure 127 : Synthèse du composé **46**.

L'hydrogénation du composé **46** conduit au composé **47** avec un rendement de 82%. La réaction de Michael est ensuite menée dans les conditions habituelles dans l'acide acétique à reflux en présence d'un équivalent de maléimide. Trois composés sont alors isolés après purification sur gel de silice flash : l'adduit de Michael **48** avec un rendement de 30%, le composé **49** avec un rendement de 2% ainsi que composé final **50** avec un rendement très modeste de 6%. La réaction n'étant pas effectuée sous atmosphère inerte, l'oxygène de l'air a probablement suffi pour oxyder le succinimide en maléimide puis la réaction de Diels-Alder s'est effectuée suivie de l'aromatisation conduisant au composé **50**. C'est la seule fois au cours des travaux exposés dans ce manuscrit que le composé bis-imide final a été obtenu directement dans la première étape.

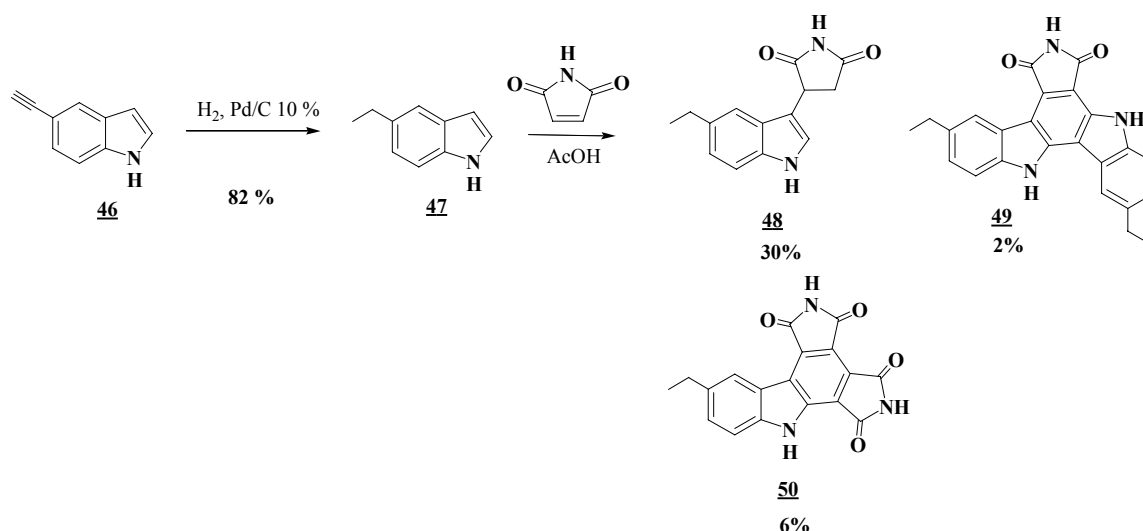
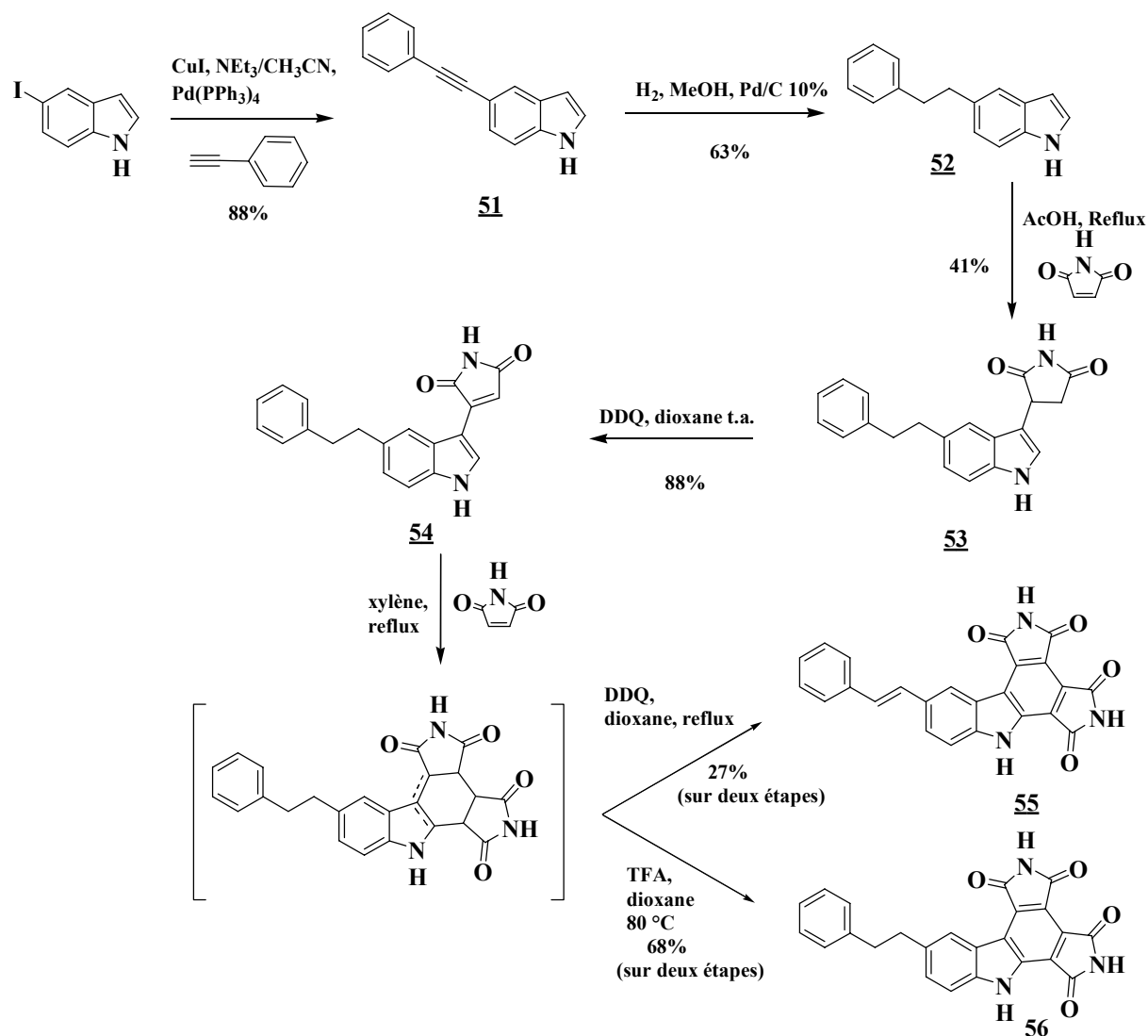


Figure 128 : Synthèse du composé **50**.

Suite à ce premier résultat, nous avons envisagé l'introduction d'autres substituants à partir du 5-iodoindole.

b) Couplage du phénylacétylène

Nous avons effectué la réaction de couplage de Sonogashira avec le phénylacétylène dans les mêmes conditions que précédemment. Le composé **51** a été obtenu avec un rendement de 88%. Après une hydrogénation catalytique permettant d'obtenir le composé **52** avec un rendement de 63%, la suite de la synthèse a été effectuée selon le mode opératoire habituel (**Figure 126**) conduisant au composé **55**. Il est à noter que l'étape d'aromatisation se fait avec un faible rendement (27%) dû à une forte dégradation et que la chaîne phényléthyle est oxydée en styryle.

Figure 129 : Synthèse des composés **55** et **56**.

Afin de pallier le faible rendement de la dernière étape d'oxydation, nous avons effectué l'oxydation en présence de TFA dans le dioxane sur l'intermédiaire obtenu lors de la réaction de Diels-Alder. Dans ces conditions, le composé **55** n'est pas obtenu. En revanche on obtient le composé **56** avec un rendement de 68% pour les deux étapes d'oxydation et de Diels-Alder. Au cours de l'oxydation en présence de TFA, l'agent oxydant est vraisemblablement l'oxygène. Les réactions d'oxydo-réduction sont les suivantes :

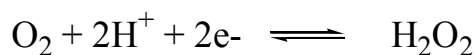
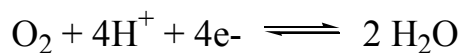


Figure 130 : Réactions d'oxydo-réduction pouvant avoir lieu lors de la réaction d'oxydation en présence de TFA.

c) Couplage de l'alcool allylique

Pour ce couplage, nous nous sommes inspirés des travaux de Jeffery.^{78,79} Cet auteur a mis au point un système catalytique permettant l'accès à des alcools allyliques par couplage de type Heck. Les rendements varient entre 60% et 92%. Dans le cas de l'exemple 2 présenté **Figure 131**, la réaction est effectuée sans solvant en présence d'un large excès d'alcool allylique (8-10 équivalents).

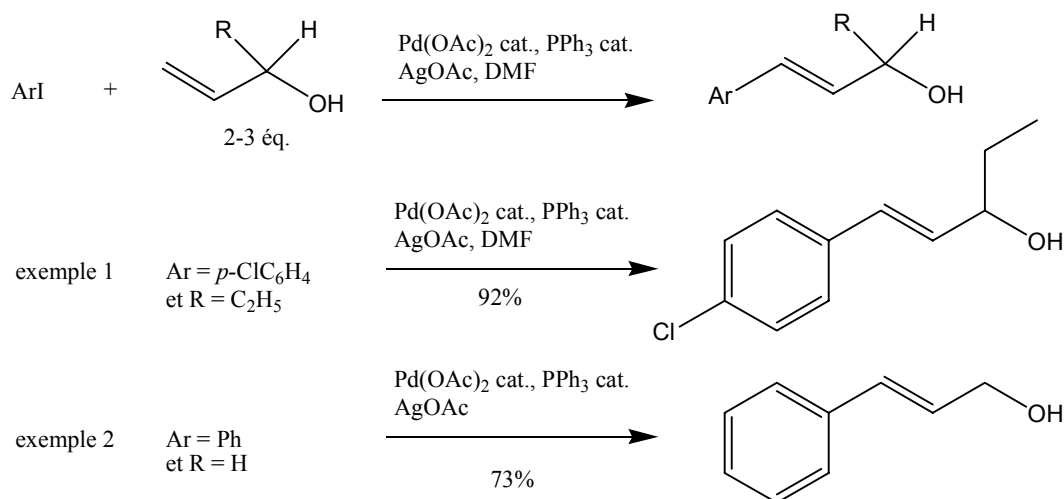


Figure 131 : Exemples de couplage de Heck par Jeffery.

Nous avons donc appliqué ces conditions catalytiques au 5-iodoindole. Le premier essai a conduit au composé **57** avec un rendement très modeste de 25%. Nous avons alors tenté d'optimiser le rendement en modifiant les conditions réactionnelles (**Tableau 22**).



Figure 132 : Couplage de Heck de l'alcool allylique sur le 5-iodoindole.

⁷⁸ Jeffery T. *Tetrahedron Lett.*, **1991**, 32, 2121-2124.

⁷⁹ Jeffery T. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1991**, 324-325.

Essais	Quantité d'indole de départ	temps	Solvant (mL)	Pd(OAc) ₂ (éq.)	PPh ₃ (éq.)	AgOAc (éq.)	Alcool allylique (éq.)	Rdt %
1	200 mg	16 h	2	0,05	0,086	1	3	25
2	1 g	42 h	10	0,05	0,086	1	3+3+3	21
3	200 mg	24 h	0,7	0,05	0,086	1	3	30
4	1 g	6 h + une nuit	5	0,05 + 0,05	0,086 + 0,086	1	3	19
5	200 mg	6 h	1	0,076	0,086	1	3	34
6	200 mg	4 h	1	0,1	0,086	1	3	14
7	200 mg	6 h + une nuit	0,5	0,05 + 0,05	0,086	1,5	3 + 3	17
8	200 mg	Une nuit	1	0,05	0,086	1	3	33

Tableau 22 : Essais effectués pour la réaction de couplage du 5-iodoindole avec l'alcool allylique.

Le meilleur rendement obtenu a été de 34% pour des conditions réactionnelles proches de celles décrites par Jeffery.

Nous avons tenté d'améliorer le rendement (dans les conditions de l'essai 5) en remplaçant la triphénylphosphine par de la tri-*o*-tolylphosphine (**Figure 133**). Aucune amélioration n'a été notée.

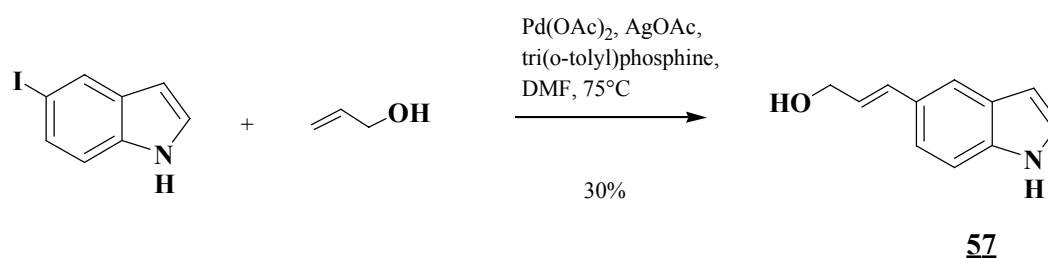


Figure 133 : Couplage avec la tri-*o*-tolylphosphine.

Face aux problèmes de rendement rencontrés avec l'alcool allylique, nous avons tenté la réaction avec un dérivé dont la fonction alcool est protégée par un groupement benzyle, l'allylbenzyléther étant commercial. Plusieurs essais ont également été effectués afin d'accéder au meilleur rendement.

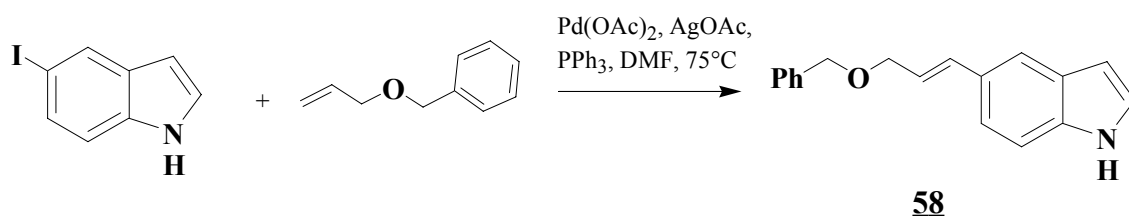


Figure 134 : Réaction de Heck avec l'allylbenzyléther.

Essai	quantité	temps	solvant (mL)	Pd(OAc) ₂ (éq.)	PPh ₃ (éq.)	AgOAc (éq.)	Alcool allylique protégé (éq.)	Rdt %
9	100 mg	20 h	0,56	0,054	0,08	1	3	30
10	500 mg	6 h + une nuit	-	0,05 + 0,05	-	1,1	3 +	8
11	1 g	4 h	5 mL	0,05	0,086	1	3	44

Tableau 23 : Essais de couplage avec l'allylbenzyléther.

Dans cette série, le meilleur rendement obtenu est de 44%. Comme cela avait été tenté avec l'alcool allylique, nous avons remplacé la triphénylphosphine par la tri-*o*-tolylphosphine. Dans ce cas, seuls des produits de dégradation ont été observés.

La synthèse a été poursuivie sur les deux composés de couplage obtenus **57** et **58** (Figure 135). Il convient tout d'abord d'hydrogéner la double liaison des composés **57** et **58** car ces composés pourraient agir comme diénophiles et réagir dans une réaction de Diels-Alder avec le maléimide (étapes de Michaël et de Diels-Alder).

Les composés sont hydrogénés dans le méthanol en présence de palladium sur charbon 10%. Afin de conserver le groupement benzyle du composé **58**, nous nous sommes inspirés des travaux de Sajiki *et al.*^{80,81} qui effectuent des hydrogénations catalytiques en présence de groupements benzyloxy. Nous avons donc introduit 1 équivalent en pyridine dans le milieu réactionnel pour le composé **58** : la pyridine permet d'inhiber l'hydrogénéolyse du benzyle. Les composés **59** et **60** sont obtenus avec des rendements respectifs de 59% et 93%.

Les réactions de Michaël avec le maléimide dans l'acide acétique à reflux ont conduit au composé **61**, dont la fonction alcool terminale a été acétylée, avec un rendement de 42% et au composé **62** avec un rendement de 49%. La structure du composé **61** a été confirmée par RMN : sur le spectre de RMN ¹H, on remarque la disparition du signal du proton de l'alcool à

⁸⁰ Sajiki H. ; Kuno H. ; Hirota K. *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, 7127-7130.

⁸¹ Sajiki H. ; Hirota K. *Tetrahedron*, **1998**, 54, 13981-13996.

4,46 ppm et l'apparition d'un grand singulet à 2,01 ppm correspondant au méthyle du groupement acétyle. Le spectre RMN ^{13}C vient confirmer la présence d'un acétate, un carbonyle supplémentaire étant observé à 170,4 ppm et le CH_3 à 20,7 ppm.

Les adduits de Michaël **61** et **62** sont ensuite oxydés au DDQ dans le dioxane pour conduire aux composés **63** et **64** avec d'excellents rendements, de 70% et 86% respectivement.

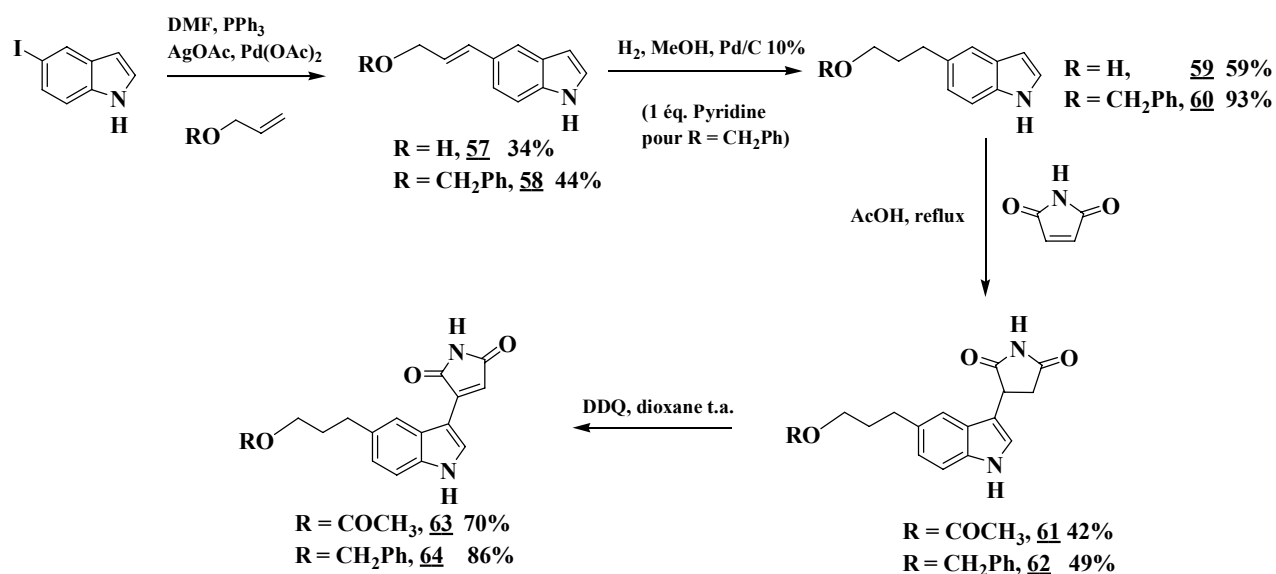


Figure 135 : Synthèse des composés **63** et **64**.

Nous avons ensuite effectué la réaction de cycloaddition de Diels-Alder et d'oxydation dans les conditions classiques (en présence de maléimide dans le xylène à reflux pour la réaction de Diels-Alder puis oxydation au DDQ dans le dioxane à reflux). Malheureusement la réaction d'aromatisation au DDQ dans le dioxane à reflux n'a conduit qu'à des produits de dégradation.

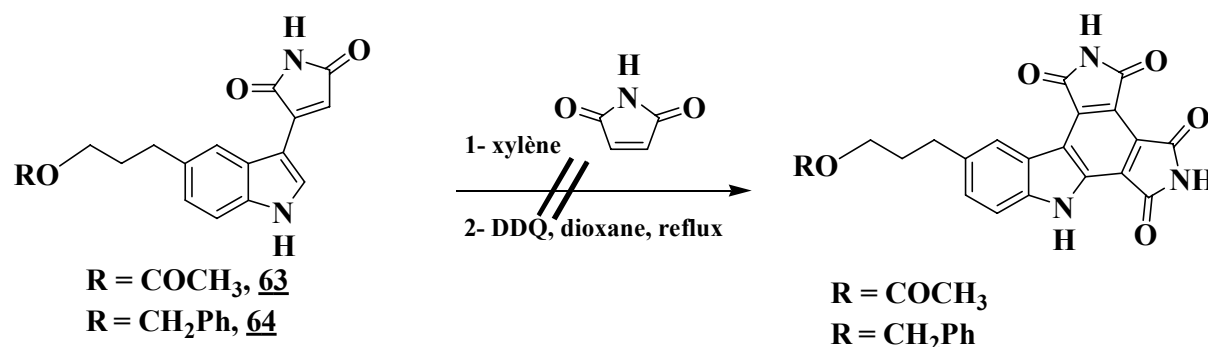


Figure 136 : Premiers essais d'oxydation.

Nous n'avons pas effectué d'autres essais sur le composé acétylé car nous n'en avons pas en quantité suffisante.

Un autre essai d'oxydation a été mené uniquement sur l'intermédiaire issu de la réaction de Diels-Alder sur le composé **64**, en présence de DDQ à température ambiante dans le dioxane (**Figure 137**). De nouveau, seuls des produits de dégradation ont été observés.

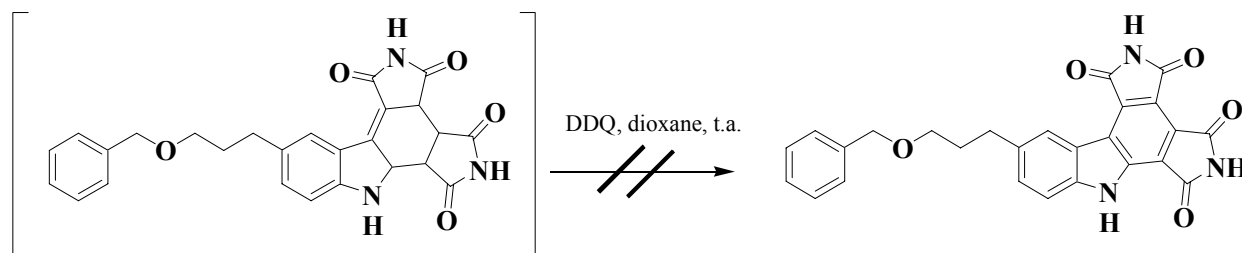


Figure 137 : Essai d'aromatisation au DDQ à température ambiante.

Nous avons alors effectué une tentative d'oxydation en présence de TFA dans le dioxane à 80 °C pendant 3 jours. Le composé **65** est obtenu après évaporation et lavage à l'eau avec un rendement de 84% pour cette étape et de 77% pour les deux étapes de Diels-Alder et d'oxydation.

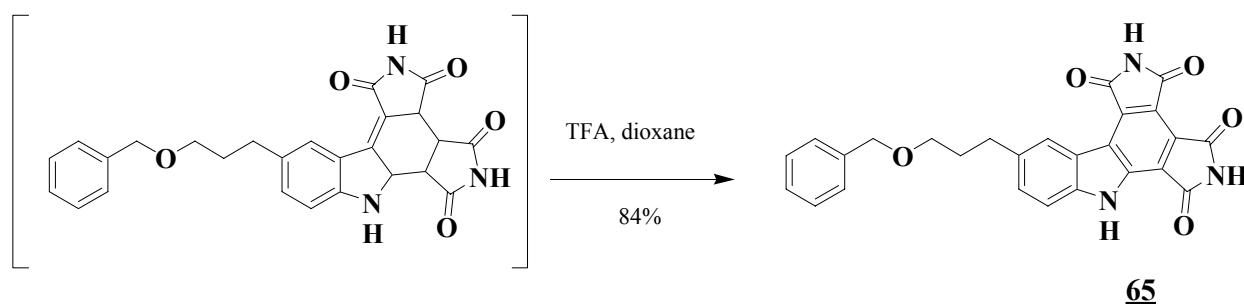


Figure 138 : Aromatisation en présence de TFA.

Pour effectuer la débenzylation du composé **65** nous ne nous sommes pas orientés vers une hydrogénéolyse en milieu hétérogène en raison de la faible solubilité du composé de départ. DeFrees *et al.*⁸² décrivent une méthode pour éliminer des groupements benzyloxyméthyles dans l'acide trifluoroacétique. Nous nous sommes alors inspirés de cette méthode pour débenzyler le composé **65**. Celui-ci est chauffé à reflux dans l'acide trifluoroacétique pendant 48 heures. Le composé débenzylé **66** est obtenu avec un rendement de 80%.

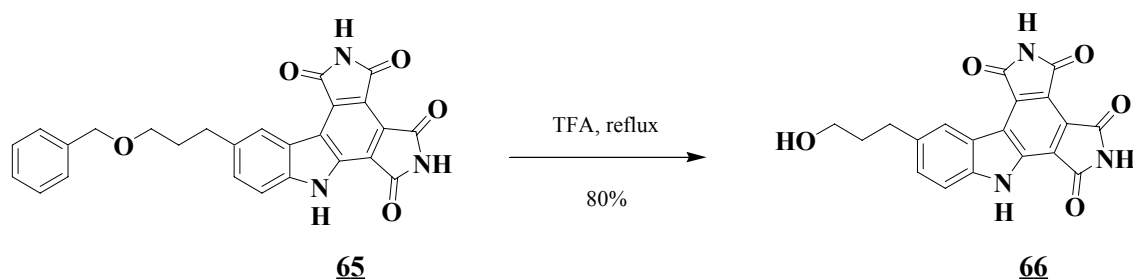


Figure 139 : Essais de débenzylation du composé **65 dans le TFA.**

⁸² DeFrees S. A. ; Reddy K. S. ; Cassady J. M. *Synthetic Commun.*, **1998**, 18, 213-220.

Dans le but de diversifier la nature des chaînes, nous nous sommes ensuite intéressés à l'introduction de chaînes pouvant conduire à un groupement amine en position terminale.

d) Essai de couplage de Sonogashira de la Cbz-propargylamine **S**

Dans un premier temps, nous avons pensé coupler la propargylamine sur le 5-iodoindole. Cela devrait nous permettre d'accéder à une chaîne qui comporterait une amine en position terminale. Nous avons alors réalisé le couplage de Sonogashira du 5-iodoindole avec la propargylamine préalablement protégée par un groupement benzyloxycarbonyle (le composé **S**)⁸³ (**Figure 140**). Le 5-iodoindole est dissous dans un mélange acétonitrile/triéthylamine est chauffé à reflux en présence de palladium tétrakis(triphénylphosphine) et d'iodure cuivreux selon la méthode utilisée par Balle *et al.*⁷⁶ Le composé **67** est obtenu avec un rendement non optimisé de 58%.

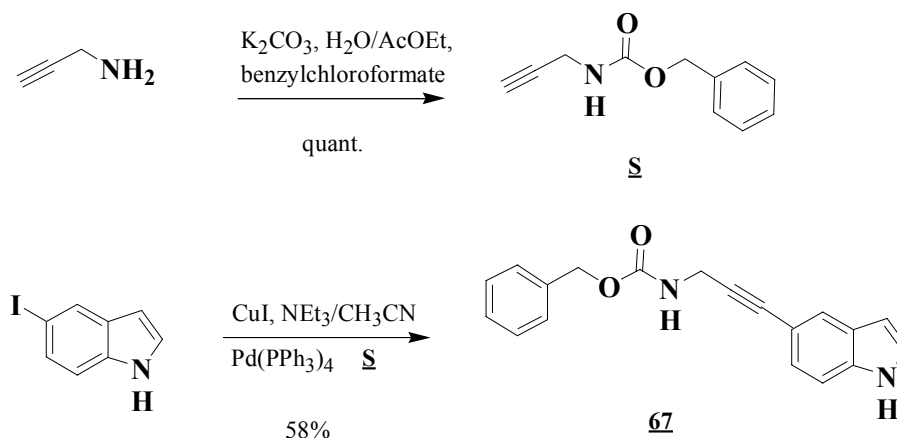


Figure 140 : Couplage de Sonogashira de la Cbz-propargylamine **S** sur le 5-iodoindole.

Le groupement benzyloxyméthyle est normalement stable dans des conditions acides modérées. Par contre, la triple liaison peut être sensible au milieu acide de la réaction de Michaël qui suit. Nous avons tout de même tenté la réaction.

Le composé **67** a donc été engagé dans la réaction de Michaël, en présence de maléimide dans l'acide acétique chauffé à reflux. Cette réaction n'a pas permis d'isoler l'adduit de Michaël attendu. Nous avons isolé avec un rendement de 31% un autre composé dont les données spectrales indiquent qu'il s'agit du composé **68**.

⁸³ Bischofberger N. ; Waldmann H. ; Saito T. ; Simon E. S. ; Lees W. ; Bednarski M. D. ; Whitesides M. J. *J. Org. Chem.*, **1988**, 53, 3457-3465.

⁷⁶ Balle T. ; Perragaard J. ; Ramirez M. T. ; Larsen A. K. ; Soby K. K. ; Liljefors T. ; Andersen K. *J. Med. Chem.*, **2003**, 46, 265-283.

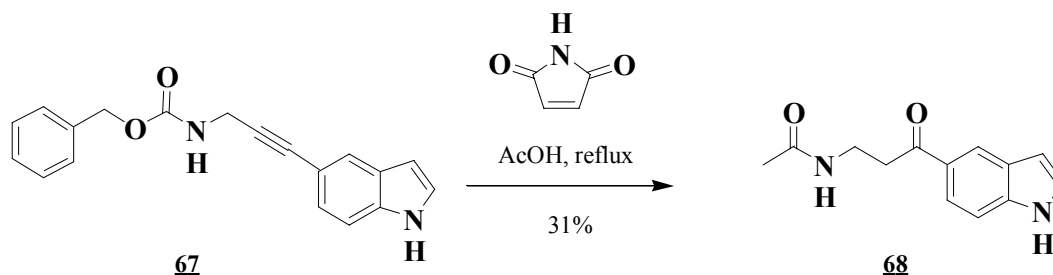


Figure 141 : Essai de réaction de Michaël sur le composé **67**.

La triple liaison et le groupement protecteur n'ont pas résisté aux conditions réactionnelles. Le produit **68** est obtenu vraisemblablement au cours de l'élimination de la fonction Cbz terminale conduisant à l'amine qui est ensuite acétylée. L'oxydation de la triple liaison est sans doute due à la présence d'eau et à la formation d'un énol intermédiaire. En effet, on remarque sur le spectre de RMN ^1H un singulet à 1,82 ppm correspondant au méthyle du groupement acétyle et sur le spectre de RMN ^{13}C deux carbonyles l'un à 169,2 ppm et l'autre à 198,0 ppm. D'autre part, nous n'observons pas les signaux caractéristiques du succinimide entre 4,5 et 3 ppm ce qui montre que la substitution du maléimide n'a pas eu lieu. Cette première stratégie qui consiste à effectuer les réactions de couplage pallado-catalysé en début de synthèse, ne pourra pas nous permettre de conserver les insaturations pour la suite de la synthèse : la triple liaison n'est pas stable et la présence d'une double liaison vinylique donnant un diénophile, la réaction de Diels-Alder sera également susceptible de poser des problèmes.

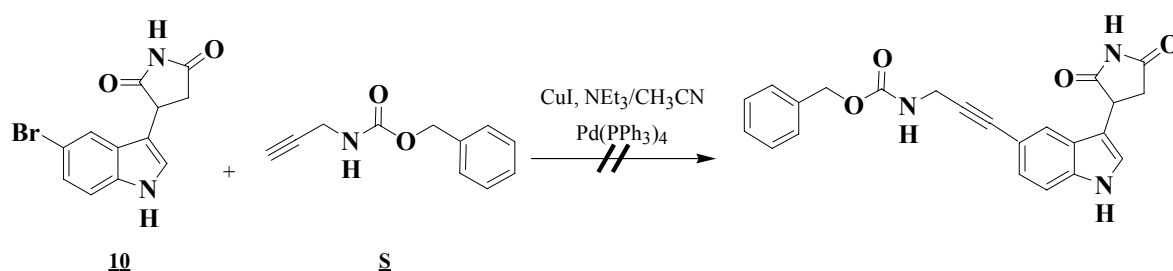
Nous avons donc envisagé ces couplages plus tard dans la synthèse, sur des dérivés bromés car nous ne disposions pas encore des composés iodés intermédiaires **12**, **21** et **30**.

2. Couplage sur un dérivé bromé

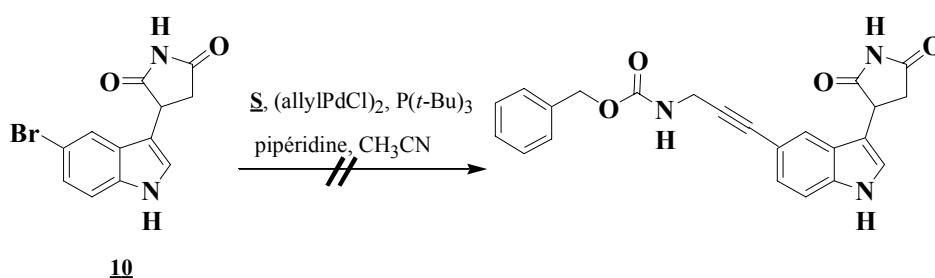
a) Essai de couplage d'un indolylsuccinimide bromé avec la Cbz-propargylamine **5**

Le couplage de la Cbz-propargylamine **5** sur le 5-iodoindole ne permettant pas d'effectuer ensuite la réaction de Michaël, l'introduction de cette chaîne peut être envisagée sur l'adduit de Michaël. Nous avons donc appliqué au dérivé bromé **10** les mêmes conditions de couplage de Sonogashira que celles décrites plus haut sur le 5-iodoindole⁷⁶ (**Figure 140**). Seul le produit de départ a été isolé.

⁷⁶ Balle T. ; Perragaard J. ; Ramirez M. T. ; Larsen A. K. ; Soby K. K. ; Liljefors T. ; Andersen K. *J. Med. Chem.*, **2003**, *46*, 265-283.

Figure 142 : Essai de couplage de **5** sur le composé **10**.

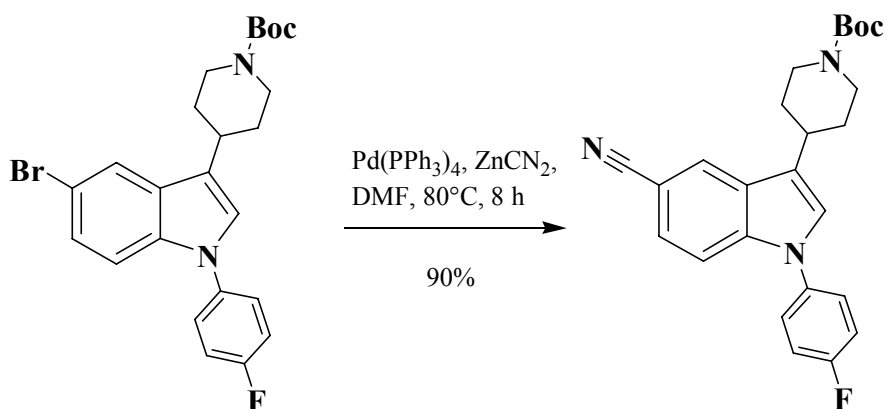
Nous avons alors modifié les conditions réactionnelles en nous inspirant des travaux de Soheili *et al.*⁸⁴ qui utilisent le chlorure d'allylpalladium en présence de *t*-butylphosphine et de pipéridine dans l'acétonitrile à température ambiante. Dans ces conditions, seul le produit de départ a été récupéré.

Figure 143 : Essai de couplage de Sonogashira selon la méthode de Soheili *et al.*

b) Essais d'introduction d'un nitrile

L'introduction d'un groupement nitrile nous a également paru très intéressante car elle nous permettrait d'accéder après réduction à une chaîne méthylamino terminale.

Nous nous sommes donc inspirés des travaux de Balle *et al.*⁷⁶ introduisant un groupement nitrile sur un dérivé du 5-bromoindole.

Figure 144 : Introduction d'un nitrile par Balle *et al.*

⁸⁴ Soheili A. ; Albaneze-Walker J. ; Murry J. A. ; Dormer P. G. ; Hughes D. L. *Organic Letters*, **2003**, 5, 4191-4194.

Nous avons essayé cette méthode sur le composé **10**. De nombreux essais ont été effectués en faisant varier la température et le temps de réaction mais le produit de couplage n'a jamais été observé.

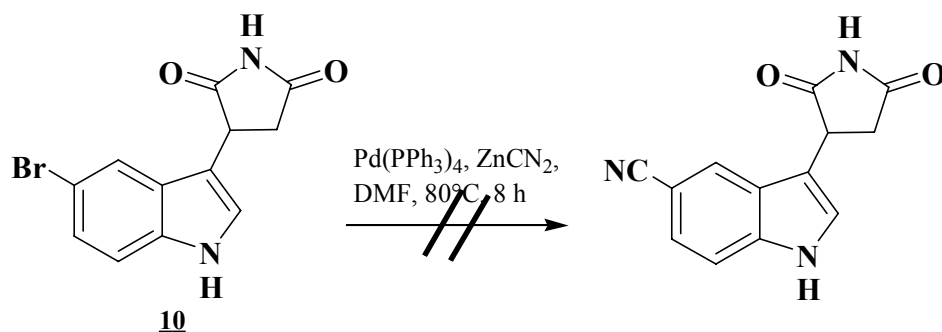


Figure 145 : Essais d'introduction d'un groupement nitrile sur le composé **10**.

Nous avons également tenté, sans succès, cette réaction sur le composé **69**, issu de la réaction de Diels-Alder entre le composé **19** et le maléimide, et sur le composé final bromé **28**.

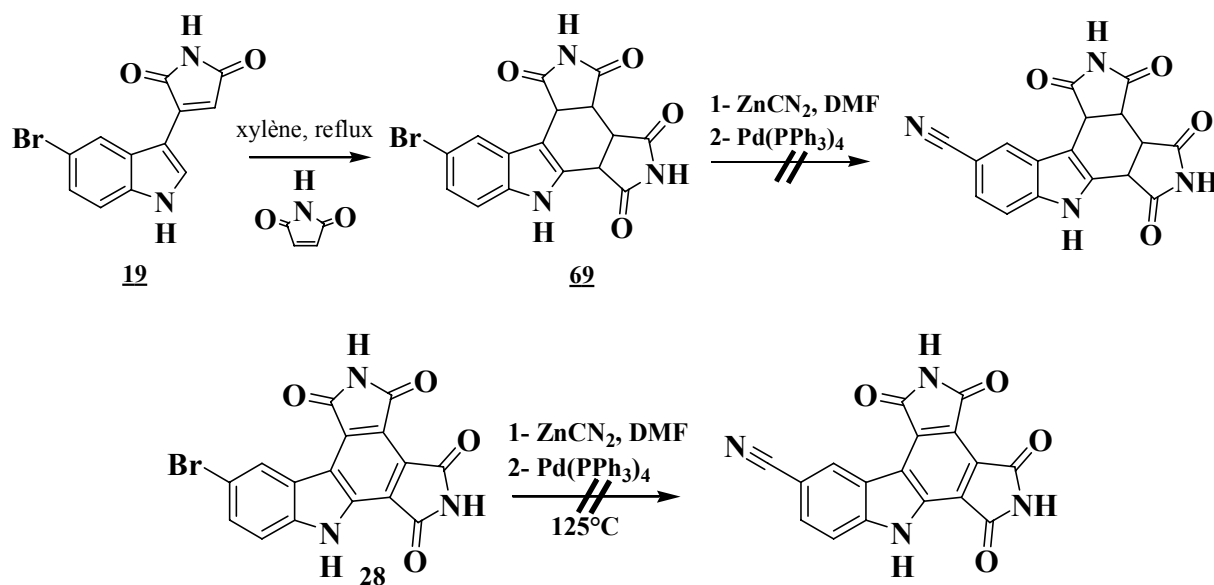


Figure 146 : Essais de couplage sur les composés **69** et **28**.

Nous avons enfin effectué un dernier essai sur le 5-bromoindole mais également sans succès.

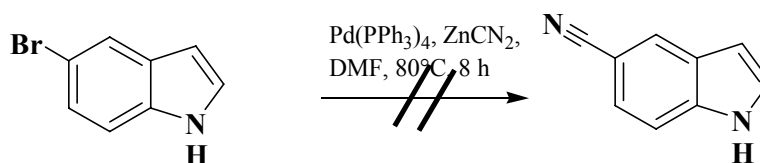


Figure 147 : Essai sur le 5-bromoindole.

Dans ces trois cas, le produit de départ est retrouvé inchangé.

c) Formylation

Yang *et al.*⁸⁵ décrivent la synthèse de plusieurs indoles différemment substitués à partir du 5-bromoindole. Dans une première étape, l'azote indolique est déprotoné par KH puis la métallation en position 5 est effectuée en présence de *tert*-butyllithium. L'intermédiaire lithié ainsi formé peut alors réagir avec un électrophile (DMF, diméthylacétamide, acétone...) pour donner après hydrolyse les composés substitués attendus.

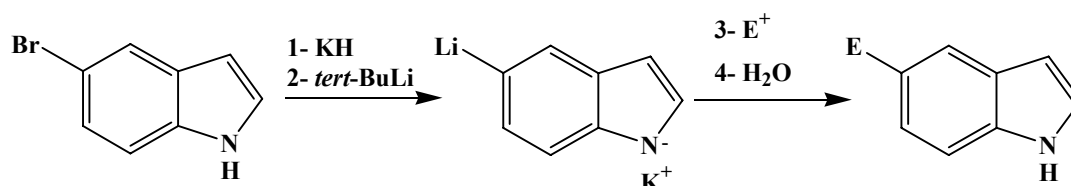


Figure 148 : Préparation d'indoles substitués en position 5 par échange halogène-métal.

Nous avons alors appliqué cette voie de synthèse avec comme électrophile le DMF afin d'accéder au dérivé formylé. Dans la littérature⁸⁵, la réaction à partir du 5-bromoindole conduit à l'aldéhyde en position 5 avec un rendement de 57%. Dans notre cas, à partir du composé **19** (Figure 149), seul le produit de départ a été isolé ce qui indique que l'échange halogène-métal ne s'est pas produit peut être en raison des charges négatives sur les deux azotes.

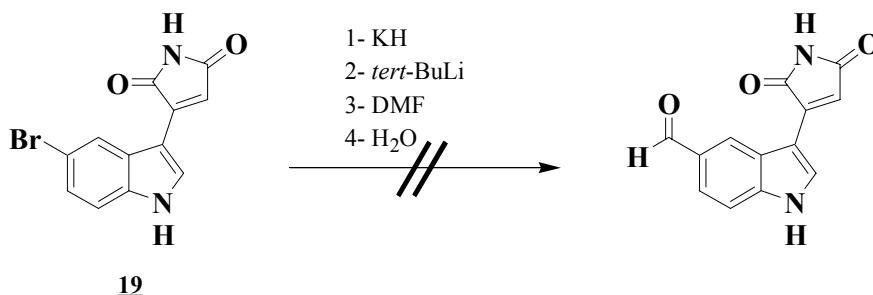


Figure 149 : Essai de formylation du composé **19**.

d) Essais de couplage sur des bis-imides

Tous les essais de couplage sur les composés bromés ayant été infructueux, nous avons envisagé d'effectuer les réactions de couplage en fin de synthèse sur des bis-imides bromés. Le manque de solubilité des bis-imides nous a orientés vers la protection des azotes

⁸⁵ Yang Y. ; Martin A. R. ; Nelson D. L. ; Regan J. *Heterocycles*, **1992**, 34,1169-1175.

imidiques/indolique en vue d'augmenter la solubilité. De plus, le fait d'effectuer les couplages en fin de synthèse augmente les possibilités de choix des chaînes à introduire.

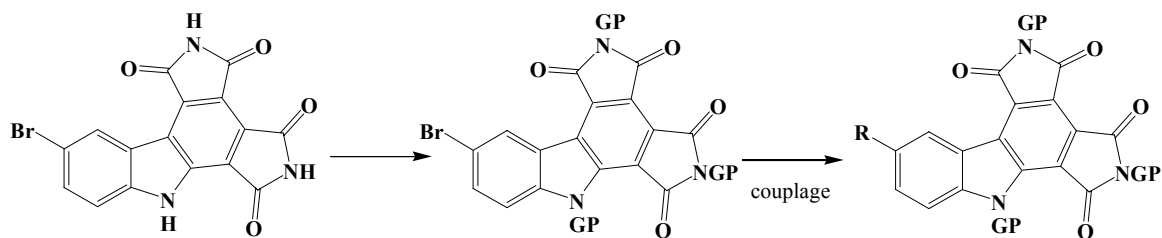


Figure 150 : Nouvelle stratégie de synthèse.

(1) Protection des imides

Dans un premier temps, nous avons envisagé la protection des azotes imidiques.

Le choix du groupement protecteur est limité. En effet, très peu de groupements protecteurs d'imide sont décrits dans la littérature car la déprotection est difficile. Nous avons effectué un premier essai de protection avec le chlorure de *tert*-butyldiméthylsilyle (TBDMSCl). Le composé **69** est dissous dans le THF puis la diisopropyléthylamine et le TBDMSCl sont ajoutés successivement. La purification du brut réactionnel nous a permis d'isoler un résidu dont les données spectroscopiques ne permettent pas de définir de structure exacte. Un second essai a été effectué dans le DMF pour accroître la solubilité du produit de départ, mais le même résultat a été obtenu. Il semblerait que l'on soit en présence d'un mélange de produits pour lesquels l'hydroxyle d'une forme tautomère de l'imide a été silylé. Le silicium ayant une plus grande affinité pour l'oxygène que pour l'azote.

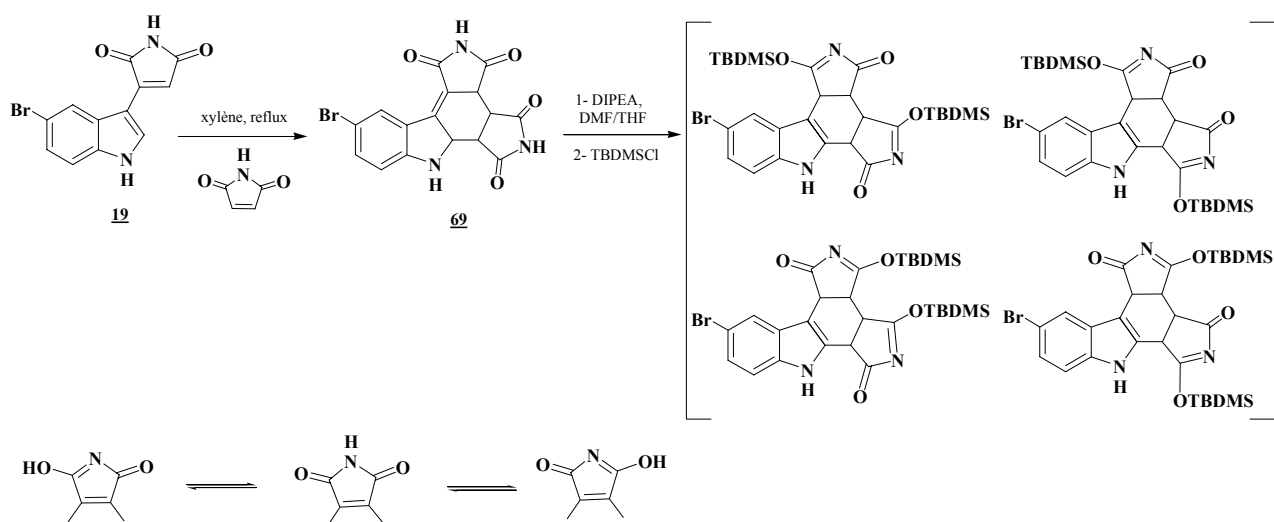


Figure 151 : Essais de protection par des groupements TBDMS.

Nous avons toutefois décidé d'engager ce mélange dans la réaction d'aromatisation au DDQ dans le dioxane à température ambiante. Un mélange inexploitable a été obtenu.

Un autre groupement protecteur a alors été envisagé : le groupement benzyloxyméthyle (BOM). Nathalie Kucharczyk, des Laboratoires SERVIER, a mis au point les conditions sur le composé **P** (**Figure 104**). Le traitement en milieu basique du composé **69** en présence de diisopropyléthylamine suivi de l'ajout du BOMCl conduit au composé **70** avec un rendement de 81%. L'aromatisation dans le dioxane à reflux en présence de DDQ conduit au composé **71** avec un rendement de 97%.

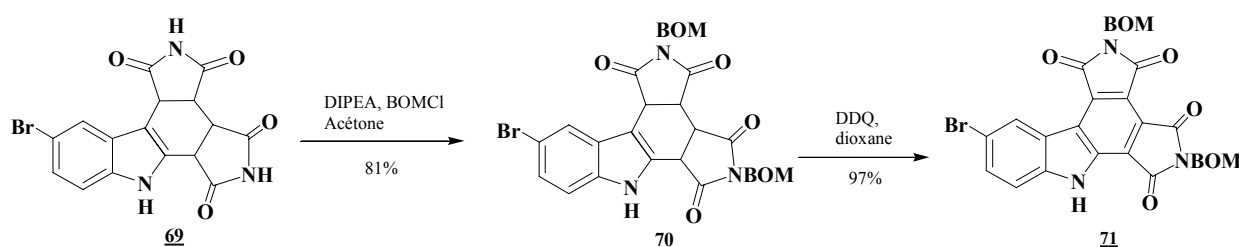


Figure 152 : Synthèse du composé di-protégé **71**.

Nous disposons maintenant du composé bromé di-protégé sur les imides par un groupement BOM. La réaction de couplage pallado-catalysé peut donc être envisagée à partir de cet intermédiaire.

(2) Réaction de couplage sur le composé **71**

La réaction de couplage avec la Cbz-propargylamine **S** est alors tentée dans les conditions décrites par Balle *et al.*⁷⁶ Malheureusement seul le produit de départ a été isolé.

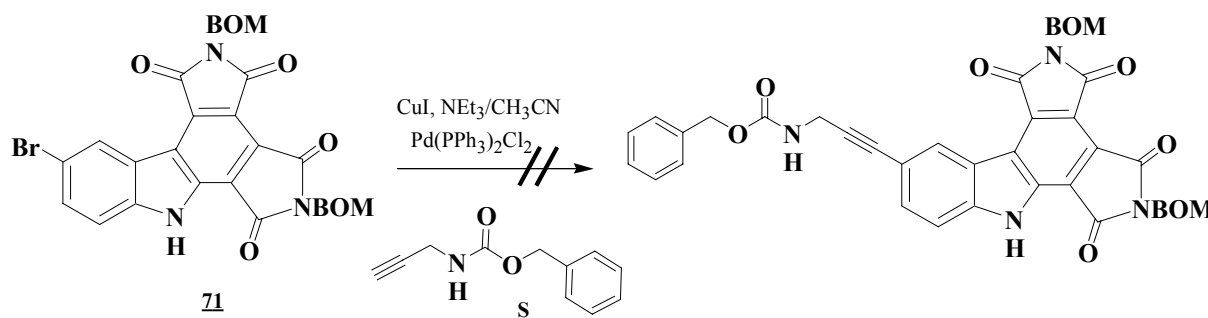


Figure 153 : Couplage de Sonogashira sur le composé **71**.

A partir de l'intermédiaire bromé **71**, nous avons ensuite essayé deux autres réactions : tout d'abord l'introduction d'un borane qui serait ensuite utilisé pour des réactions de couplage de

⁷⁶ Balle T. ; Perragaard J. ; Ramirez M. T. ; Larsen A. K. ; Soby K. K. ; Liljefors T. ; Andersen K. *J. Med. Chem.*, **2003**, *46*, 265-283.

Suzuki, et une formylation ce qui conduirait à un aldéhyde pouvant être modifié par plusieurs voies (oxydation, réduction, Wittig, \square). Les deux essais réalisés selon les travaux de Yang *et al.*⁸⁵ n'ont pas permis d'obtenir les produits désirés.

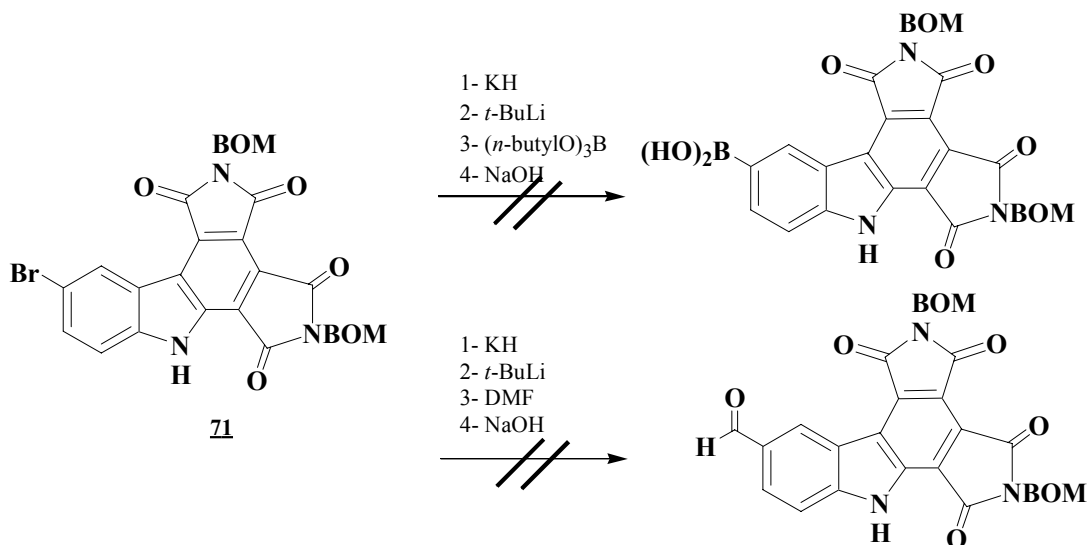


Figure 154 : Essais d'échange halogène-métal sur le composé **71**.

Nous avons alors envisagé la protection de l'azote indolique en plus des imides car dans de nombreux exemples de couplage pallado-catalysé sur des indoles, l'azote indolique est souvent substitué.

(3) Tri-protection imidique et indolique et couplage

Etant donné que nous disposions du composé **71** protégé par des groupements BOM sur les imides, il ne nous restait plus qu'à effectuer la protection de l'azote indolique.

Dans un premier temps nous avons envisagé une protection par un groupement benzène sulfonyle en présence de NaH et de chlorure de benzène sulfonyle dans un mélange THF/DMF. Plusieurs essais ont été effectués, mais, à chaque fois, seul le produit de départ a été récupéré. L'anion se forme mais vraisemblablement la conjugaison excessive diminue la nucléophilie de l'anion formé.

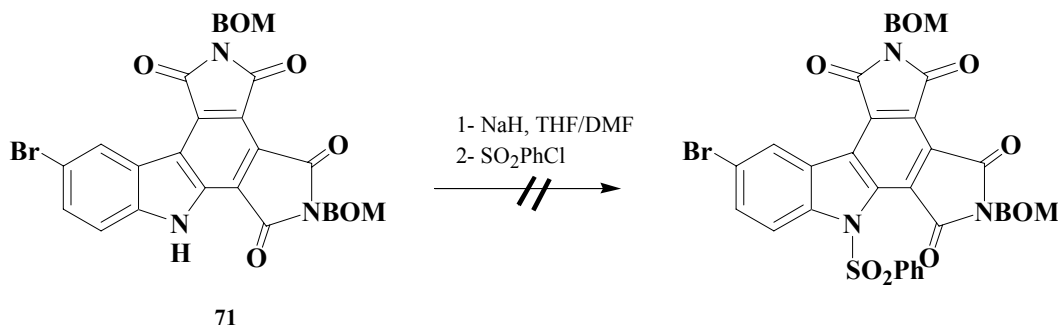


Figure 155 : Essais de protection par un groupement benzène sulfonyle.

⁸⁵ Yang Y. ; Martin A. R. ; Nelson D. L. ; Regan J. *Heterocycles*, **1992**, 34,1169-1175.

Nous avons alors envisagé un autre groupement protecteur : le groupement 2-(triméthylsilyl)-éthoxyméthyle (SEM).

La déprotonation au NaH, suivi de l'addition du chlorure de 2-(triméthylsilyl)-éthoxyméthyle, conduit au composé **72** avec un rendement de 77%.

Nous avons tenté un couplage de Suzuki sur le composé **72**, dans des conditions classiques.⁸⁶ Malheureusement, aucun produit de couplage n'a été isolé.

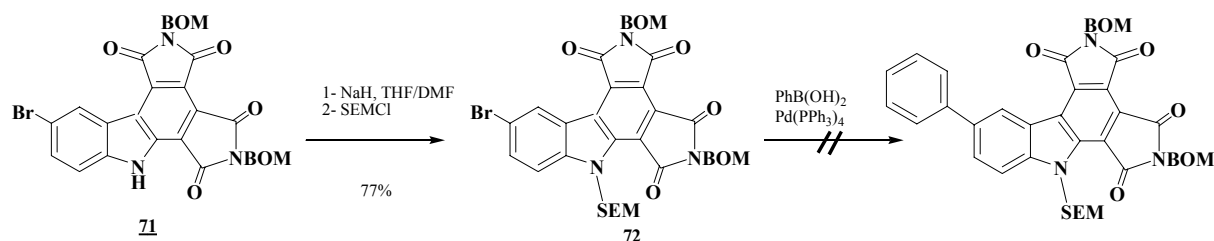


Figure 156 : Triprotection et couplage.

(4) Conclusion

Les réactions de couplage posent apparemment des problèmes à partir du dérivé bromé. Il est vraisemblable que ce problème soit dû non au manque de solubilité mais plutôt au manque de réactivité du dérivé bromé. Il est possible que l'addition oxydante ne se produise pas sur le dérivé bromé **72**. Nous avons voulu vérifier si le problème venait bien de la réactivité du brome et non des conditions réactionnelles.

Les réactions de couplage de Sonogashira déjà effectuées sur le 5-iodoindole avec la Cbz-propargylamine (composé **S**) ou le triméthylsilylacétylène ont conduit aux produits attendus (Figures 140 et 124). Nous avons tenté ces réactions de couplage sur le 5-bromoindole. Aucune réaction n'a été observée, ce qui semble confirmer que l'addition oxydante ne se fait pas à partir de nos produits de départ bromés.

⁸⁶ Cheng J. ; Wang F. ; Xu J.-H. ; Pan Y. ; Zhang Z. *Tetrahedron Lett.*, **2003**, 44, 7095-7098.

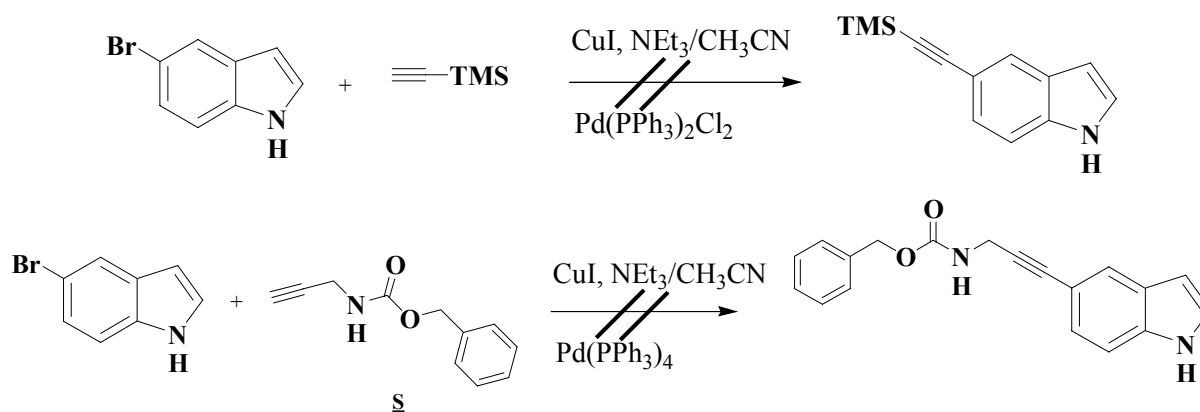


Figure 157 : Essais de couplage d'un groupement triméthylsilylacétylène et du composé **S** sur le 5-bromoindole.

Afin de mettre au point une méthode générale permettant d'effectuer les réactions de couplage pallado-catalysés avec des réactifs variés, il nous fallait accéder au dérivé iodé **30** dont nous n'avions pas encore réussi la synthèse.

Dans un premier temps nous nous sommes intéressés à des méthodes d'échange d'halogène à partir de dérivés bromés, puis nous avons étudié la réaction de Michaël à partir du 5-iodoindole.

3. Accès au dérivé iodé par échange d'halogène

a) Méthode de Klapars *et al.*

Dans la littérature, plusieurs exemples d'échange d'halogène à partir de dérivés du 5-bromoindole sont décrits. Par exemple, Klapars et Buchwald⁸⁷ décrivent l'échange dans les conditions suivantes (Figure 158) :

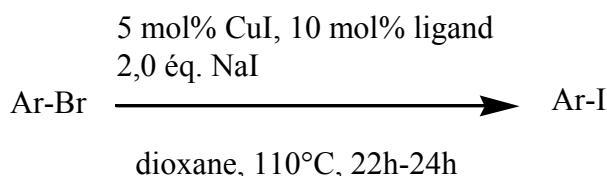


Figure 158 : Méthode Klapars et Buchwald.

Ces conditions sont appliquées sur le dérivé 5-bromoindole avec un rendement de 98%, avec comme ligand la *trans*-*N,N*-diméthyl-1,2-cyclohexanediamine (**1b**). Cette réaction est

⁸⁷ Klapars A. ; Buchwald S. L. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 14844-14845.

également possible à partir d'autres dérivés bromés avec la diméthyléthylène diamine (**2b**) ou même avec l'éthylène diamine (**2a**) avec de moins bons rendements.

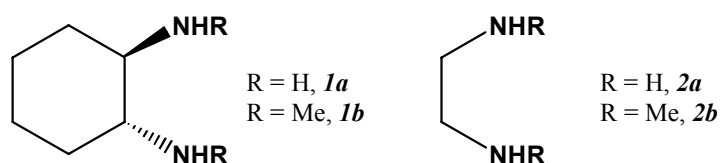


Figure 159 : Ligands utilisés pour l'échange d'halogène.

Nous avons alors décidé d'engager le composé **10** dans ces conditions en présence d'éthylènediamine. Aucune réaction ne s'est produite et le produit de départ a été récupéré.

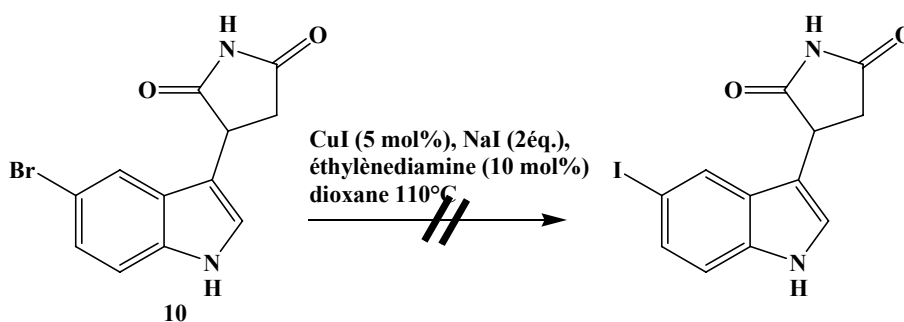


Figure 160 : Essai d'échange d'halogène selon Klapars *et al.* sur le composé **10**.

b) Méthode par échange halogène-métal

Une autre méthode consiste d'abord en un échange halogène-métal par un traitement au butyllithium, puis attaque d'I₂ par cet intermédiaire lithié.

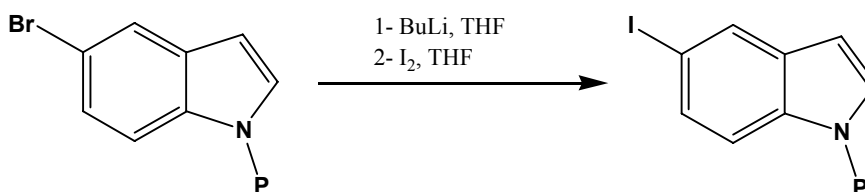


Figure 161 : Stratégie d'échange Halogène-métal.

Cette méthode nécessite la protection de l'indole. Dans la littérature, on trouve plusieurs exemples d'échange sur des dérivés du bromoindole ou de bromocarbazole diversement substitués sur l'azote.^{88,89,90}

⁸⁷ Klapars A. ; Buchwald S. L. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 14844-14845.

⁸⁸ Yamada K. ; Kurokawa T. ; Tokuyama H. ; Fukuyama T. *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 6630-6631.

⁸⁹ Song Y.-L. ; Morin C. *Synlett*, **2001**, 2, 266-268.

⁹⁰ Jian H. ; Tour J. M. *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 5091-5103.

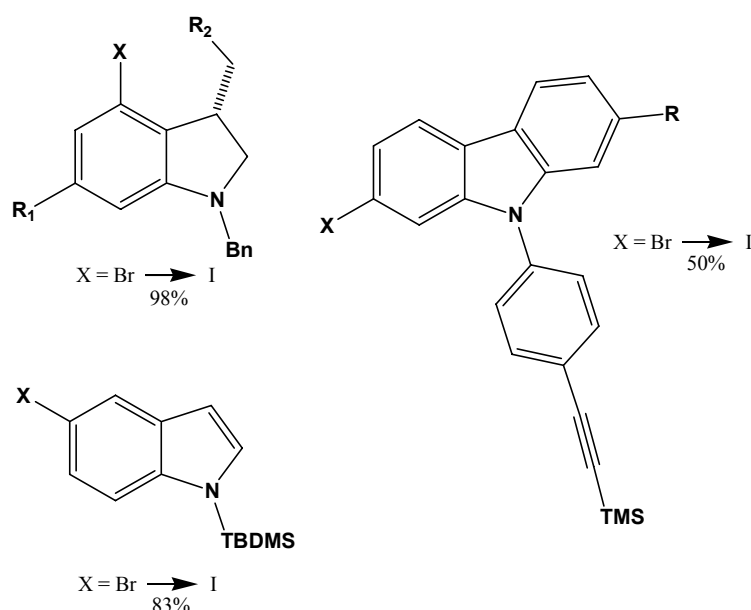


Figure 162 : Exemples de réaction d'échange d'halogène.

Les rendements pour la réaction d'échange sur les différents composés vont de 50% à 98%. Nous avons donc envisagé d'appliquer cette méthode afin d'obtenir le composé iodé. Il convient alors de choisir un groupement protecteur pour l'azote indolique et les imides qui soient faciles à introduire et également à éliminer. Nous avons choisi le groupement silylé SEM (2-(triméthylsilyl)-éthoxyméthyle). La réaction de tri-protection est effectuée sur le composé **28**. Le composé **73** est obtenu avec un rendement de 74%.

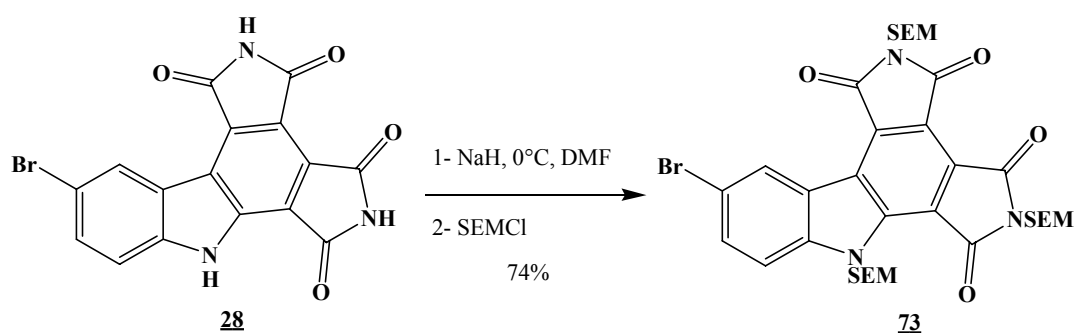


Figure 163 : Tri-protection du composé **28**.

Nous avons alors envisagé l'échange d'halogène par traitement au butyllithium puis à l'iode.^{87,88,89} Aucun échange d'halogène n'a été observé et le produit de départ est récupéré.

⁸⁷ Klapars A. ; Buchwald S. L. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 14844-14845.

⁸⁸ Yamada K. ; Kurokawa T. ; Tokuyama H. ; Fukuyama T. *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 6630-6631.

⁸⁹ Song Y.-L. ; Morin C. *Synlett*, **2001**, 2, 266-268.

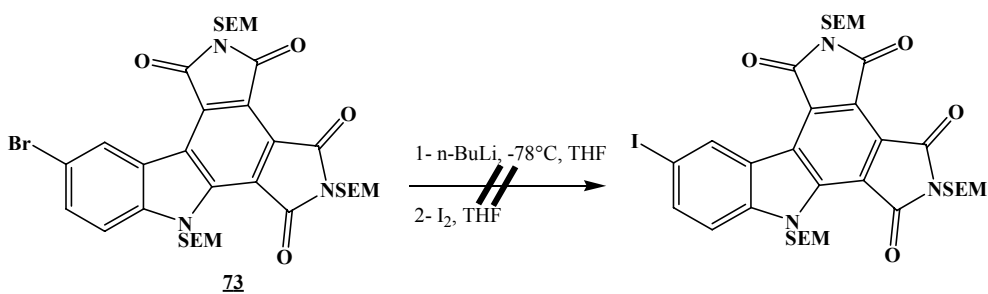


Figure 164 : Essai d'échange halogène-métal sur le composé **73**.

c) Autres méthodes par substitution nucléophile aromatique

Une substitution nucléophile aromatique est alors tentée à partir du composé **28** : dans le DMF à 155 °C en présence d'iodure de potassium. Nous avons effectué deux essais en présence ou en l'absence d'iodure de cuivre (40 éq.).^{91,92} Dans les deux cas, nous n'avons pas obtenu le composé souhaité.

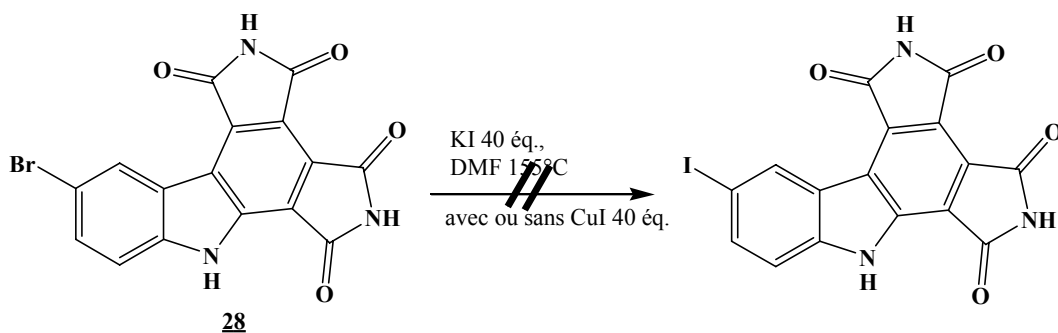


Figure 165 : Autre méthode d'échange d'halogène.

d) Conclusion

Tous les essais effectués afin d'accéder au dérivé iodé ont échoué. Il semblerait que la stabilité de la liaison C-Br dans ces composés hautement conjugués qui empêchait les réactions de couplages pallado-catalysés de s'effectuer, ne permette pas à l'échange d'halogène de se faire.

Une voie de synthèse restait à explorer : réussir la réaction de Michaël sur le 5-iodoindole.

⁹¹ Morita T. ; Takase K. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1982**, 55, 1144-1152.

⁹² Ito S. ; Kubo T. ; Morita N. ; Matsui Y. ; Watanabe T. ; Ohta A. ; Fujimori K. ; Murafuji T. ; Sugihara Y. ; Tajiri A. *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 2891-2894.

4. Accès au dérivé iodé : étude de la réaction de Michaël

Comme nous l'avons vu précédemment, la réaction de Michaël dans l'acide acétique à reflux entre le 5-iodoindole et le maléimide, ne permet pas d'obtenir le composé désiré.

De nombreux essais ont été réalisés afin d'accéder à l'adduit de Michaël **12** dans d'autres conditions réactionnelles (**Tableau 24**).

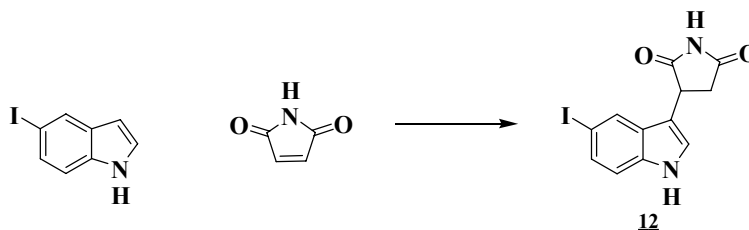
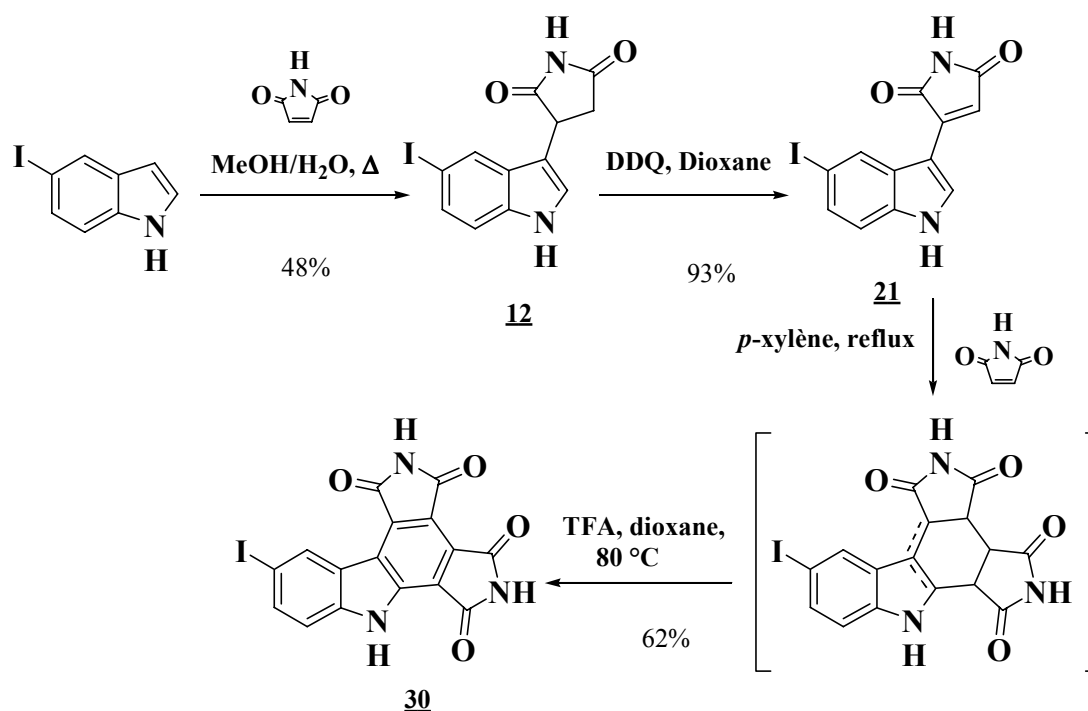


Figure 166 : Réaction de Michaël à partir du 5-iodoindole.

Essais	5-iodoindole	Maléimide (éq.)	AcOH (mL)	MeOH (mL)	E a u (mL)	T ° C	temps	conditions	résultats
1	100 mg	1,05	1			80°C	24 h		Produit de départ
2	100 mg	1,05		1		reflux	40 h		Produit de départ
3	100 mg	5		0,5	0,5	reflux	24 h		5%
4	100 mg	1,05		5		reflux	6 h	HCl 10 mol%	dégradation
5	100 mg	10		2	1	reflux	24 h + 24 h	Argon au bout de 24h ajout 1 mol% HCl 48 h	12%
6	100 mg	5		0,5	0,5			18 heures reflux puis 3 h à 155 °C en tube scellé	56%
7	100 mg	5			0,5	155° C	7 h 30	En tube scellé	24%
8	100 mg	5		2	1	155° C (80°C nuit)	7 h + 16 h + 6 h + 16 h	En tube scellé Ajout maléimide et MeOH	34%
9	100 mg	5				155° C	5 mn	Sans solvant	20% (mais pas propre)
10	100 mg	5				100° C puis 110° C	1 h puis 10 mn	Sans solvant	dégradation
11	1 g	5		2	2	130° C	16 h + 8 h	En tube scellé	22%
12	500 mg	10		2,5	2,5	reflux	2,5 jours	Argon	48%

Tableau 24 : Essais de réaction de Michaël.

Au cours de cette étude, nous avons rencontré des problèmes de reproductibilité. Le meilleur résultat a été obtenu pour l'essai 12 qui nous a permis d'accéder au composé **12** avec le meilleur rendement et une bonne reproductibilité. A partir du composé **12**, le composé **30** a été obtenu dans les conditions précédemment décrites dans ce chapitre (Tableau 18).

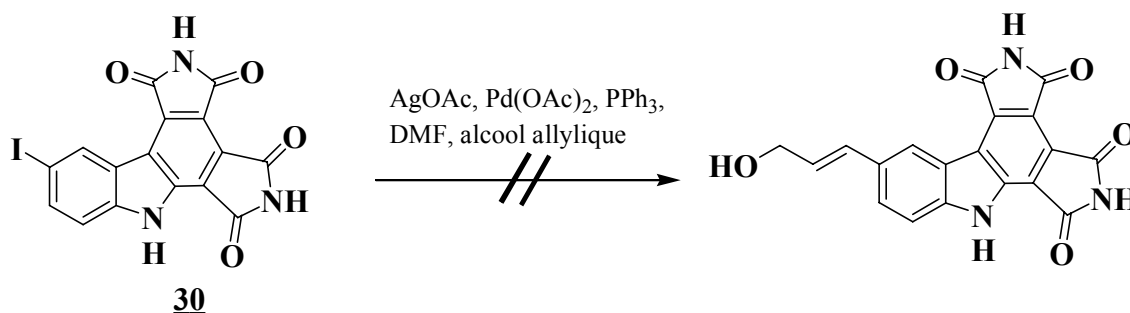
Figure 167 : Synthèse du composé **30**.

Nous disposons maintenant du composé iodé final qui présentera normalement la meilleure réactivité pour les réactions de couplage pallado-catalysé. Cette synthèse va nous permettre d'envisager les réactions de couplage en fin de synthèse et donc l'accès à une plus grande variété de chaînes avec la possibilité de conserver les insaturations.

5. Réactions de couplage en fin de synthèse sur un bis-imide iodé

a) Essai sur le composé **30** non-protégé

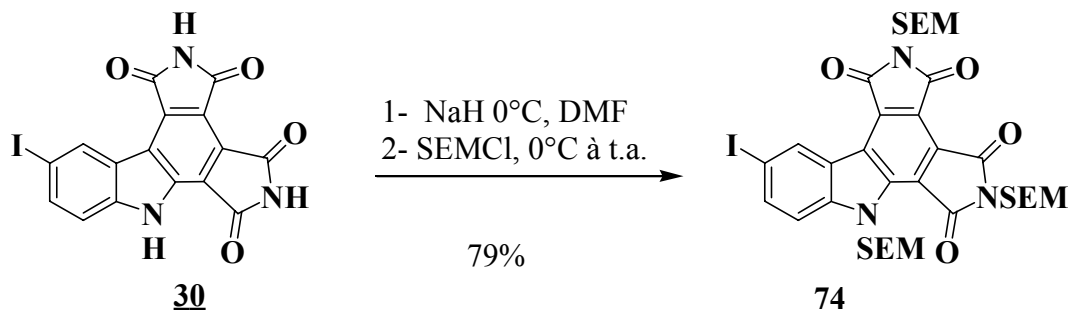
Un premier essai de couplage de Heck a été effectué sur le composé **30** dans les conditions décrites précédemment (paragraphe I-B-1-c). Aucun produit de couplage n'a été détecté.

Figure 168 : Couplage de Heck sur le composé **30**.

Il est probable que ce résultat soit dû à la faible solubilité du composé **30** dans les conditions employées.

b) Protection du composé 30

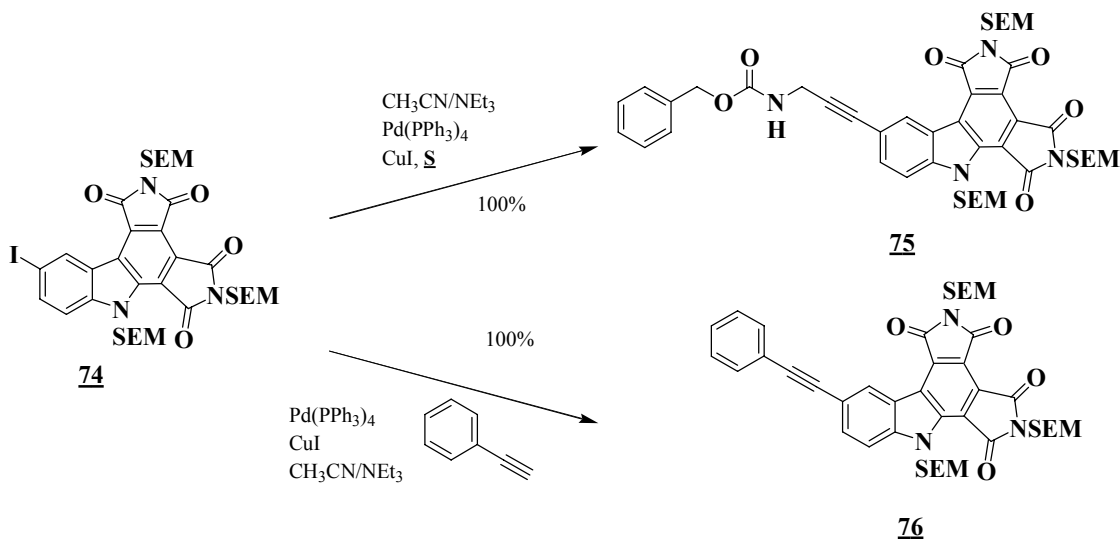
Pour pallier ce problème de solubilité, nous avons envisagé l'introduction de groupements protecteurs solubilisants. Nous avons choisi le groupement SEM. Ainsi le composé tri-protégé **74** a été obtenu avec un rendement de 79%.

Figure 169 : Protection du composé **30**.

La solubilité de ce composé dans les solvants organiques est maintenant très bonne.

c) Les couplages

Nous avons envisagé le couplage de Sonogashira à partir de la Cbz-propargylamine **S** et du phénylacétylène sur le composé **74**, dans les conditions précédemment décrites (Figure 140 et 129).⁷⁶

Figure 170 : Couplage de **S** et du phénylacétylène sur le composé **74**.

Les composés **75** et **76** sont obtenus avec des rendements quantitatifs.

⁷⁶ Balle T. ; Perragaard J. ; Ramirez M. T. ; Larsen A. K. ; Soby K. K. ; Liljefors T. ; Andersen K. *J. Med. Chem.*, **2003**, 46, 265-283.

Nous voulions également accéder au dérivé nitrile. Or la méthode de Balle *et al.*⁷⁶ avec le cyanure de zinc ne nous a jamais permis d'obtenir le produit de couplage (**Figure 145, 146 et 147**). Nous avons donc envisagé d'utiliser le cyanure de potassium en présence de palladium tétrakis(triphénylphosphine) et d'iodure cuivreux.⁹³ Le composé **77** est alors obtenu avec un rendement de 84%.

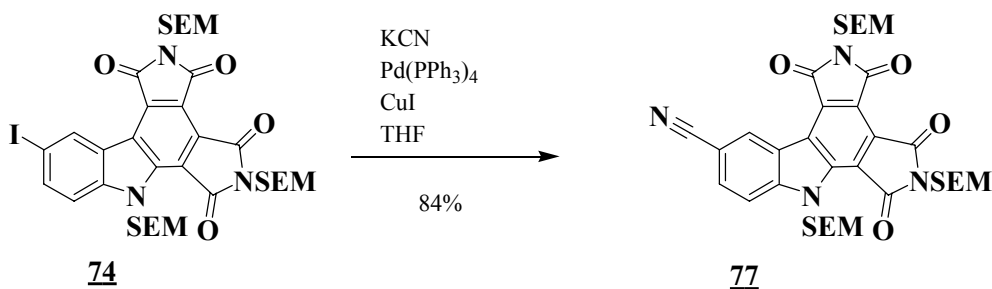


Figure 171 : Introduction d'un nitrile.

Afin d'accéder aux composés finaux, il convient d'effectuer la réaction de déprotection des azotes des cycles B, D et E.

d) Déprotection

(1) *Introduction*

Nous n'avons pas trouvé dans la littérature d'exemples de déprotection de groupement SEM sur des azotes imidiques. Cependant plusieurs méthodes sont décrites sur divers types de fonctions azotées.

Gallant *et al.*⁹⁴ décrivent une déprotection d'un groupement SEM indolique par du TBAF en présence de tamis moléculaire (**Figure 172**).

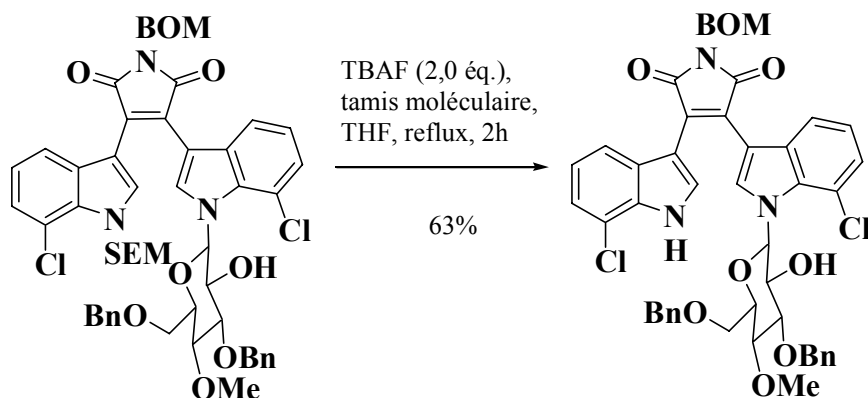


Figure 172 : Déprotection au TBAF par Gallant *et al.*

⁹³ Anderson B. A. ; Becke L. M. ; Booher R. N. ; Flaugh M. E. ; Harn N. K. ; Kress T. J. ; Varie D. L. ; Wepsec J. P. *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 8634-8639.

⁹⁴ Gallant M. ; Link J. T. ; Danishefsky S. J. *J. Org. Chem.*, **1993**, 58, 343-349.

Mellor et Thomas⁹⁵ ont effectué une déprotection de groupements SEM sur des uraciles en présence de HF (**Figure 173**). Ces auteurs avaient également essayé cette déprotection avec le TBAF mais sans succès.

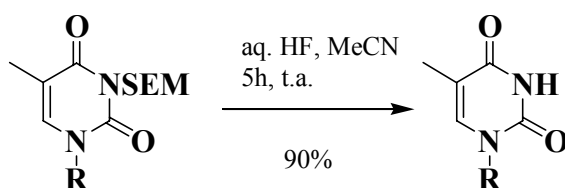


Figure 173 : Déprotection de Mellor et Thomas au HF.

(2) Déprotection au TBAF

Dans un premier temps, nous avons tenté une déprotection du composé **77** par le fluorure de tétrabutylammonium (TBAF) en solution dans le THF. Ce premier essai ne nous a pas permis d'obtenir le composé déprotégé attendu. Nous obtenons majoritairement le produit de départ en mélange avec des produits non identifiés.

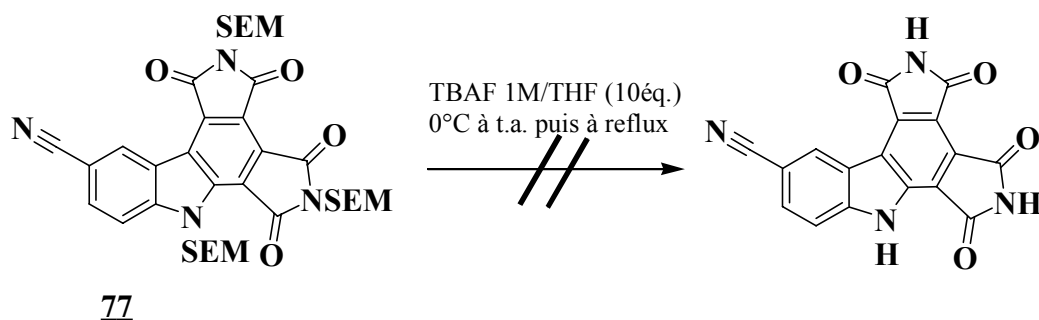


Figure 174 : Premier essai de déprotection au TBAF.

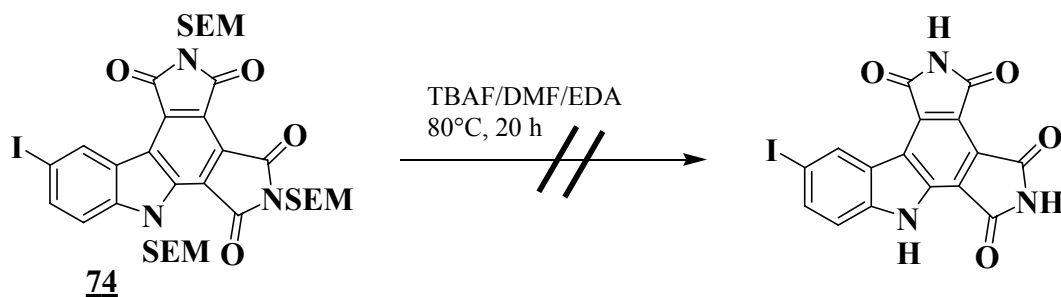
Selon les travaux de Labadie *et al.*⁹⁶, de l'éthylène diamine peut être ajoutée au milieu réactionnel. En effet, Labadie *et al.* ont rencontrés des problèmes de déprotection et ont appliqué une méthode utilisée par Muchowski et Solas⁹⁷, introduisant de l'éthylènediamine au milieu réactionnel afin de piéger le formaldéhyde libéré au cours de la réaction de déprotection.⁹⁸ Dans notre cas, nous n'avons observé aucune déprotection.

⁹⁵ Mellor B. J. ; Thomas E. J. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I.* **1998**, 747-757.

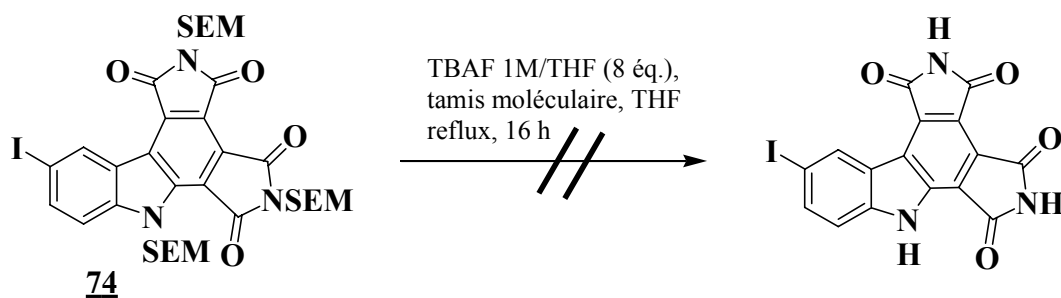
⁹⁶ Labadie S. S. ; Teng E. *J. Org. Chem.*, **1994**, 59, 4250-4254.

⁹⁷ Muchowski J. M. ; Solas D. R. *J. Org. Chem.*, **1984**, 49, 203-205.

⁹⁸ Anderson H. J. ; Groves J. K. *Tetrahedron Lett.*, **1971**, 3165.

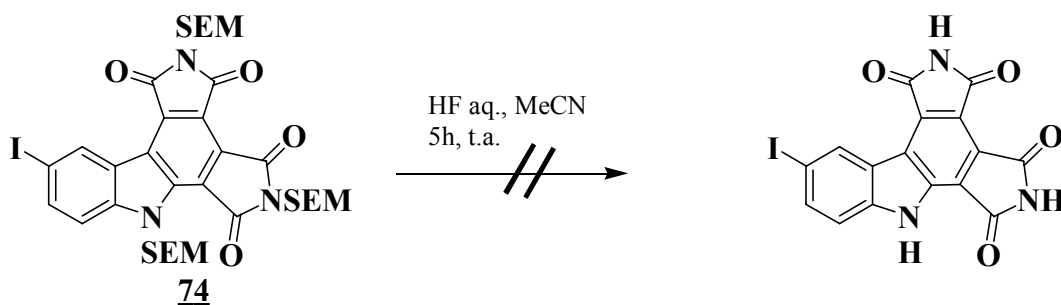
Figure 175 : Déprotection selon Labadie *et al.*

Nous avons alors décidé alors d'appliquer les conditions décrites par Gallant *et al.*⁹⁴, en présence de tamis moléculaire dans le THF à reflux. Seul le produit de départ a été isolé.

Figure 176 : Déprotection selon Gallant *et al.*

(3) Avec HF

Nous avons finalement tenté un dernier essai en utilisant HF dans l'acétonitrile.⁹⁵ Pour cela un réacteur en Téflon® a dû être conçu pour effectuer la réaction. Le composé **74** dissous dans l'acétonitrile et un large excès d'une solution aqueuse d'HF est ajouté. Cette manipulation a été effectuée dans un réacteur en téflon. Au bout de 5 heures à température ambiante et après purification, seul le composé de départ a été récupéré.

Figure 177 : Essais de déprotection du composé **74** par HF aqueux.

Face à ces échecs successifs, un autre groupement protecteur facile à éliminer devra être utilisé afin d'accéder aux composés déprotégés finaux.

⁹⁴ Gallant M. ; Link J. T. ; Danishefsky S. J. *J. Org. Chem.*, **1993**, 58, 343-349.

⁹⁵ Mellor B. J. ; Thomas E. J. *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1*. **1998**, 747-757.

Les travaux de Shen *et al.*⁹⁹ décrivent la préparation de nouveaux macrocycles de type bis-7-azaindolylmaléimide. Dans leur synthèse, le groupement 2,4-diméthoxybenzyle sur l'imide est éliminé par de l'acide méthanesulfonique à température ambiante avec des rendements de 38 à 68% selon le produit de départ (**Figure 178**).

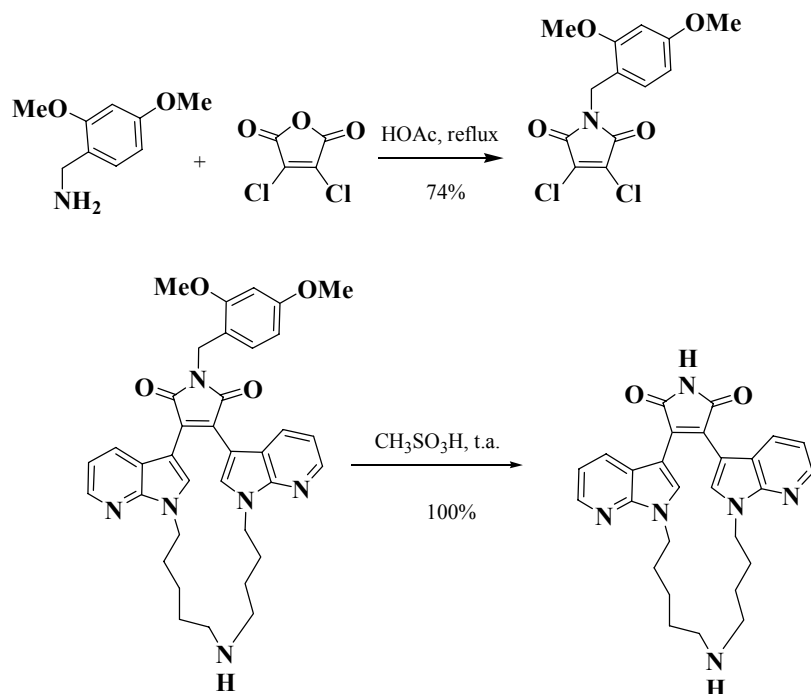


Figure 178 : Exemple de groupement protecteur et un exemple de déprotection.

Ce type de groupement protecteur pourra être essayé afin d'obtenir un bis-imide iodé suffisamment soluble pour pouvoir mettre en œuvre les réactions de couplages au palladium en espérant que ce groupement protecteur pourra être éliminé facilement en fin de synthèse.

⁹⁹ Shen L. ; Prouty C. ; Conway B. R. ; Westover L. ; Xu J. Z. ; Look R. A. ; Chen X. ; Beavers M. P. ; Roberts J. ; Murray W. V. ; Demarest K. T. ; Kuo G.-H. *Bioorg. Med. Chem.*, **2004**, 12, 1239-1255.

Chapitre II : INTRODUCTION D'UN GROUPEMENT SOLUBILISANT SUR LE CYCLE B

I. Introduction

Afin de pallier les nombreux problèmes liés à la faible solubilité des composés déjà préparés, nous avons envisagé l'introduction de groupements solubilisants. Pour cela, nous avons choisi deux types de groupements : l'un de type osidique et l'autre possédant un résidu aminoacide couplé directement sur l'azote indolique ou par l'intermédiaire d'une chaîne alkyle (**Figure 179**).

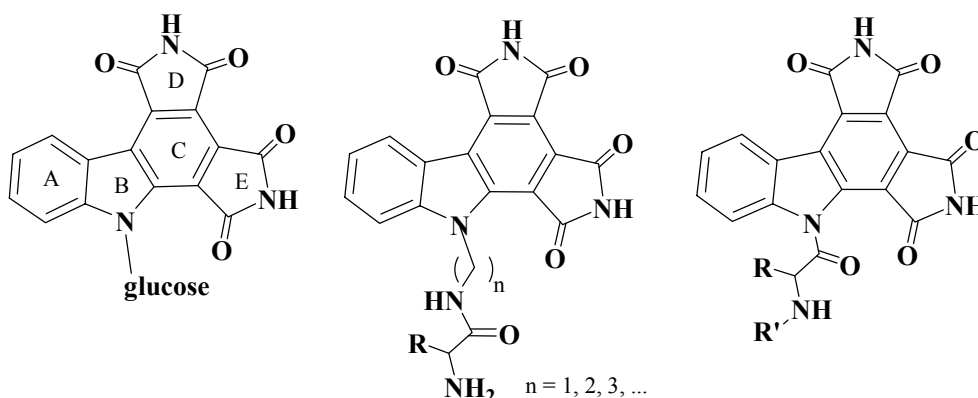


Figure 179 : Structures générales envisagées.

II. Introduction d'un β -glucoside

Stratégie de synthèse :

L'accès au bis-imide glycosylé est envisagé par introduction de la partie osidique préalablement à la réaction de Diels-Alder à cause de la faible solubilité des produits en fin de synthèse.

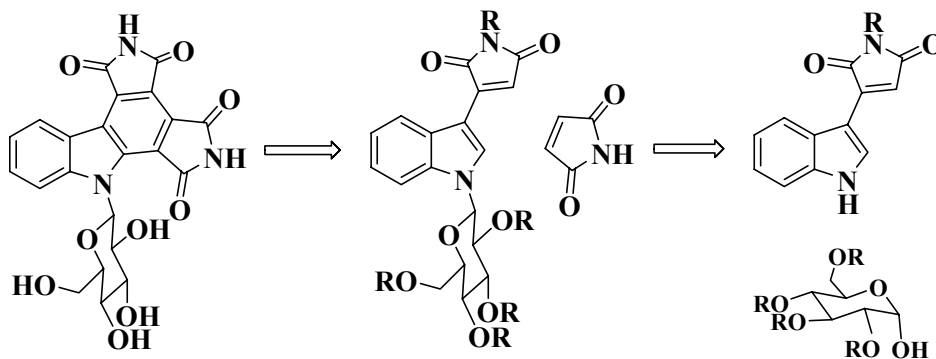


Figure 180 : Schéma rétrosynthétique.

Nous avons décidé de commencer cette étude en protégeant le maléimide par un groupement méthyle.

A. Avec un groupement méthyle sur le cycle D comme groupe protecteur

1. Glycosylation

a) Méthode de Danishefsky

La méthode de Danishefsky concerne des travaux effectués au cours de la synthèse totale de la rébeccamycine.⁹⁴ L'étape clé de glycosylation fait intervenir un anhydrosucre en présence d'une base.

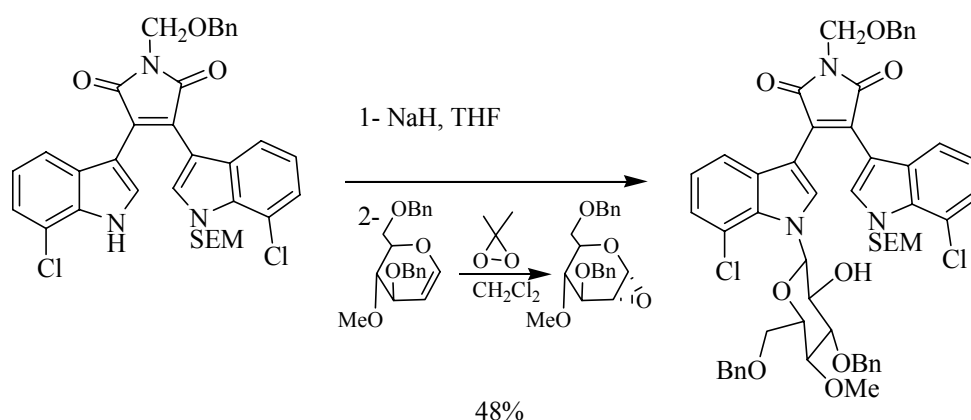


Figure 181 : Etape clé de glycosylation de Gallant *et al.*

En nous référant à ces travaux, nous avons préparé le 1,2-anhydrosucre **I** d'anométrie α par époxydation du glycal tribenzylé avec le diméthyldioxirane.

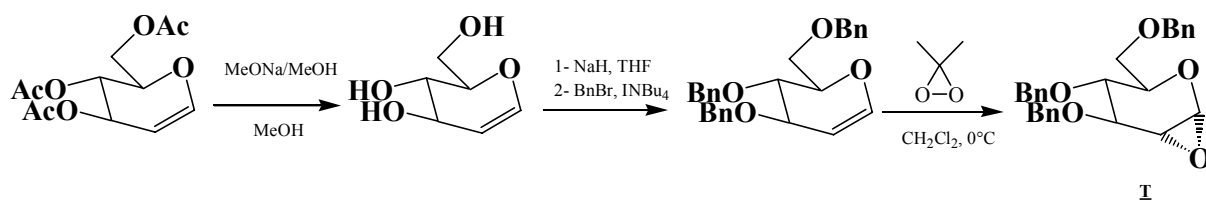


Figure 182 : Préparation du 1,2-anhydrosucre.

L'attaque nucléophile de l'azote indolique déprotoné du composé **R** sur le carbone anomère de l'époxyde, permet d'obtenir le β -N-glycoside (Figure 183). Malheureusement, même après 3 jours à reflux, aucun produit de couplage n'a été isolé.

⁹⁴ Gallant M. ; Link J. T. ; Danishefsky S. J. *J. Org. Chem.*, **1993**, 58, 343-349.

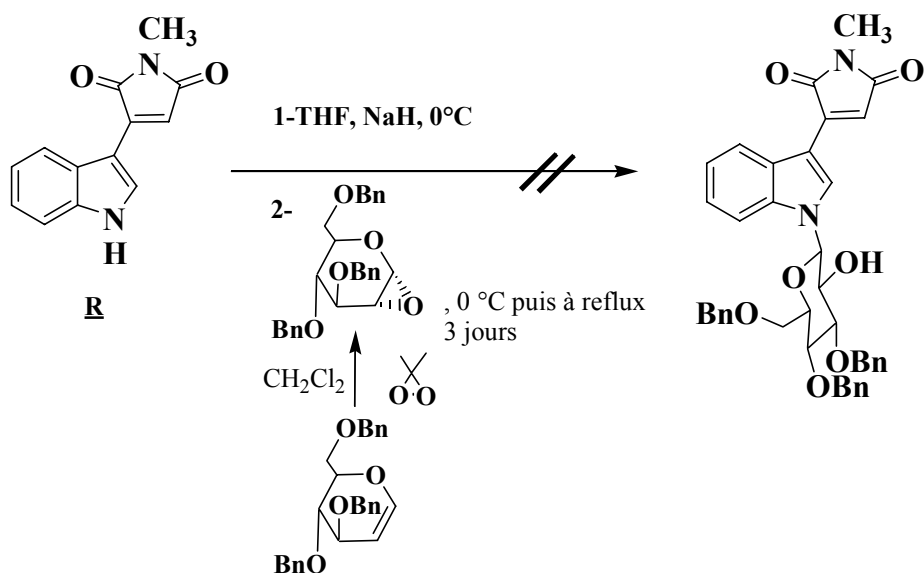


Figure 183 : Essai de couplage du 1,2-anhydrosucre **T** selon Gallant *et al.* sur le composé **R**.

Nous avons donc modifié les conditions de réaction en appliquant la procédure de Faul *et al.*¹⁰⁰ employant un défaut d'anhydrosucre (0,5 éq. contre 2,9 éq. pour Danishefsky *et al.*) dans l'acétonitrile.

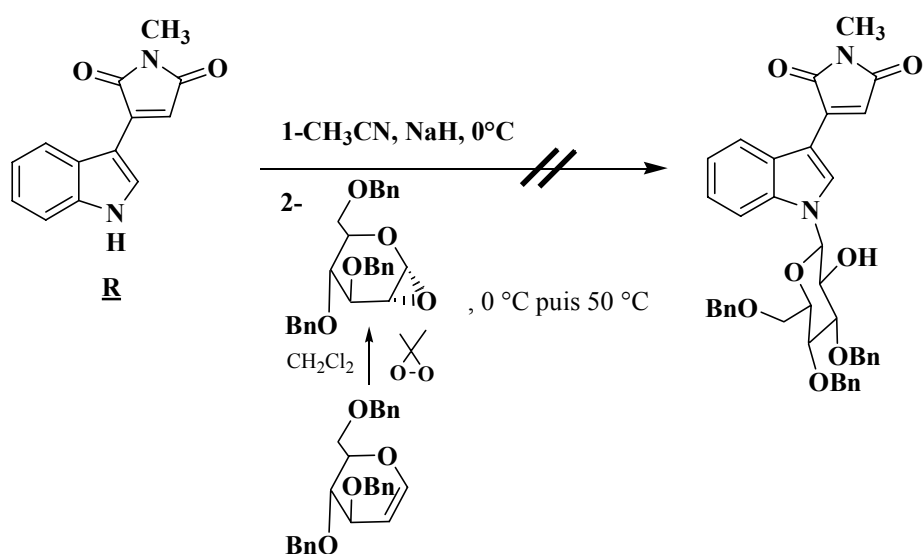


Figure 184 : Essai de glycosylation selon Faul *et al.* sur le composé **R**.

Cette seconde méthode n'a pas non plus permis d'obtenir le composé glycosylé attendu. Nous avons tenté la réaction sur l'analogue succinimide du composé **R**, le composé **Q**, dans les mêmes conditions.

¹⁰⁰ Faul M. M. Winneroski L. L. Krumrich C. A. *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 2465-2470.

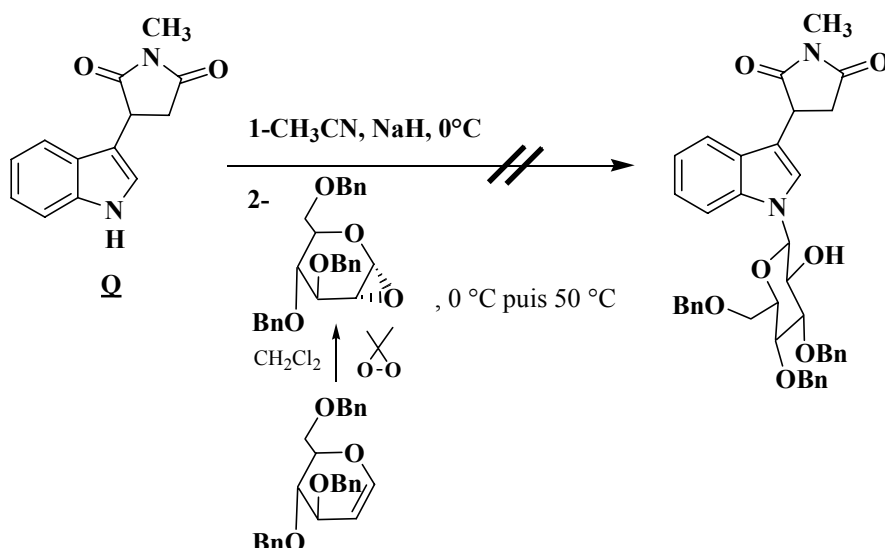


Figure 185 : Essai de glycosylation de Faul *et al.* sur le composé **Q**.

Le composé glycosylé n'a pas non plus été isolé. Il est vraisemblable que dans l'exemple de Danishefsky l'atome de chlore augmente la densité électronique sur l'azote qui devient alors plus nucléophile. D'autre part, il aurait peut-être fallu utiliser plusieurs équivalents de NaH en raison de la présence d'hydrogènes labiles en α des carbonyles. Nous nous sommes orientés vers une autre stratégie.

b) Réduction de l'indole

Les réactions de glycosylation sont plus faciles sur les indolines. Par exemple, au cours de sa thèse, Bernadette Hugon a synthétisé le composé glycosylé **VI** selon la méthode de Melnik *et al.*¹⁰¹

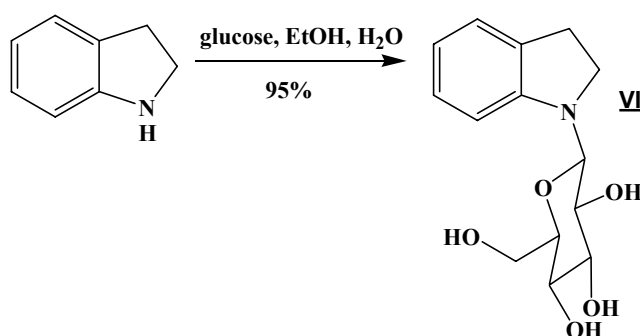


Figure 186 : Glycosylation sur l'indoline.

¹⁰¹ Melnik S. Y. ; Bakhmedova A. A. ; Garaeva L. D. ; Goryunova O. V. ; Miniker T. D. ; Plikhtyak I. L. ; Ektova L. V. ; Ivanova T. P. ; Yartseva I. V. *Bioorganicheskaya Khimiya*, **1996**, 22, 467-476.

Nous avons envisagé la réduction de l'indole du composé **Q** en indoline selon la méthode de Lanzilotti *et al.*¹⁰² afin d'effectuer ensuite la réaction de glycosylation.

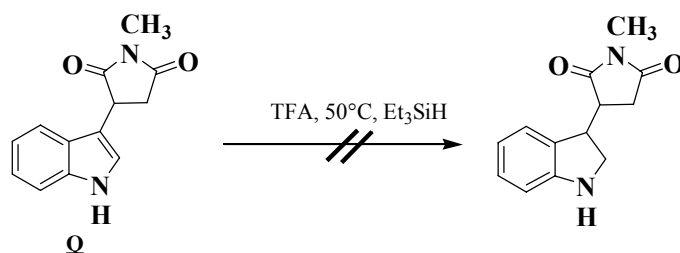


Figure 187 : Essai de réduction du composé **Q**.

Cet essai de réduction n'a pas permis d'obtenir le composé attendu, vraisemblablement à cause de l'attaque des carbonyles par les ions hydruure, la réaction de Lanzilotti *et al.* étant réalisée sur des composés ne possédant pas ce motif maléimide. Nous nous sommes alors rapidement orientés vers une autre stratégie de synthèse en utilisant la réaction de Mitsunobu.

c) Méthode de Mitsunobu

La réaction de glycosylation de Mitsunobu en présence d'un α -glucopyranose s'effectue avec une inversion de configuration de manière à conduire au composé β -glycosylé.

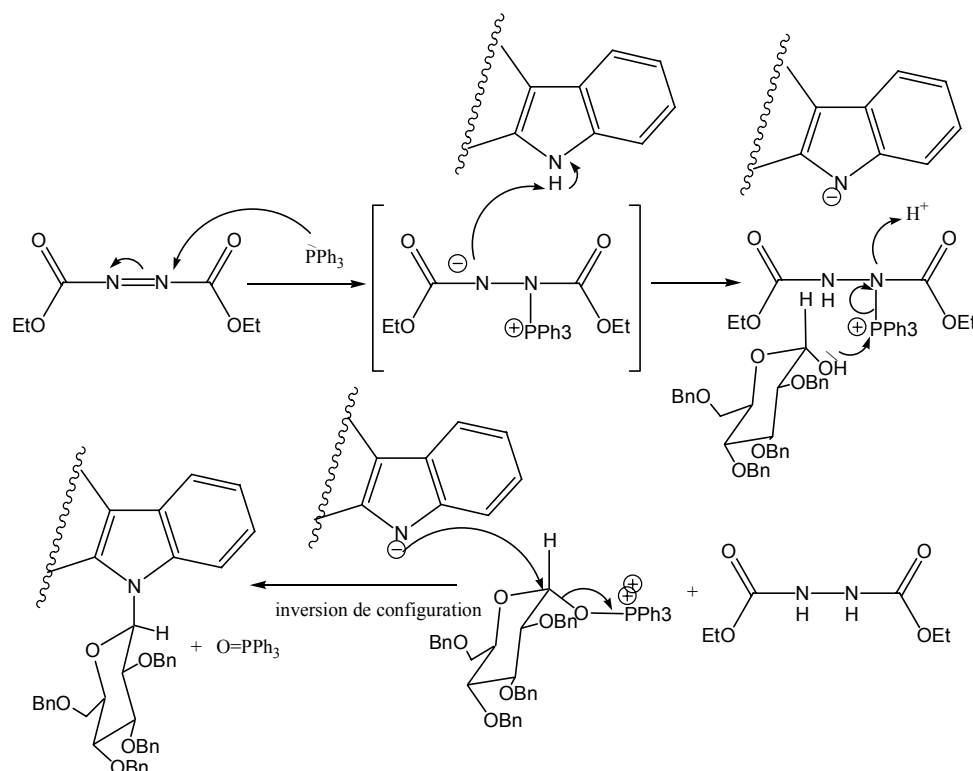


Figure 188 : Mécanisme de la réaction de Mitsunobu.

¹⁰² Lanzilotti A. E. ; Littell R. ; Fanshawe W. J. ; McKenzie T. C. ; Lovell F. M. *J. Org. Chem.*, **1979**,26, 4809-4813.

Dans des travaux portant sur la synthèse d'analogues de la rébeccamycine, la glycosylation de l'indolylmaléimide **U** a été effectuée avec un rendement de 82%.¹⁰³

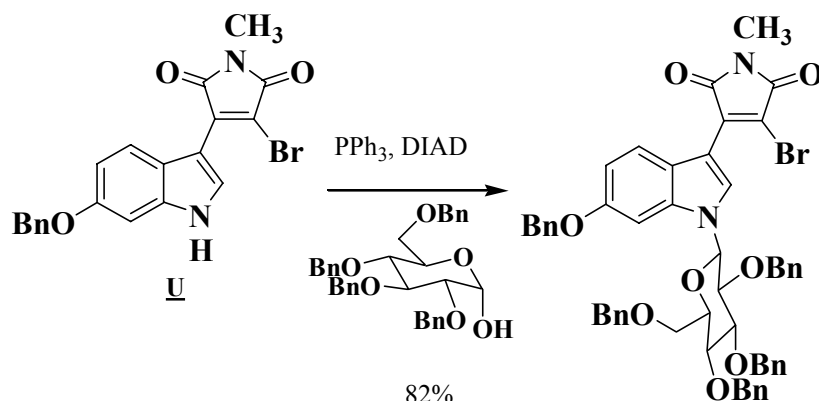


Figure 189 : Application de la réaction de Mitsunobu par Ohkubo *et al.* pour le couplage d'un α -glucose.

Christelle Marminon au cours de sa thèse a effectué un essai de glycosylation sur le composé **VII** avec un sucre acétylé, mais sans succès.

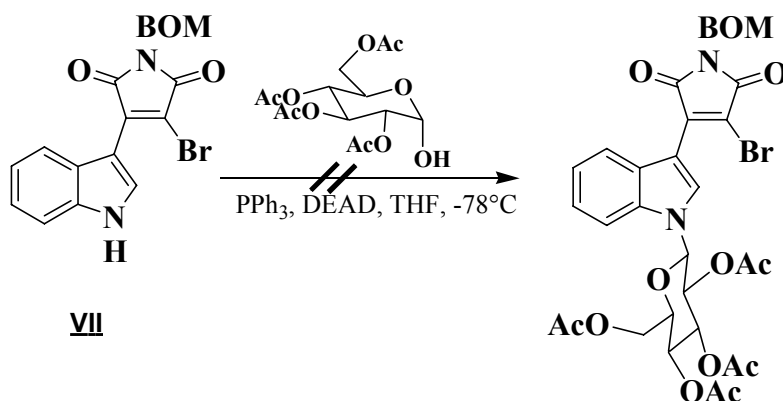


Figure 190 : Essai de couplage sur le composé **VII**.

Le sucre tétra-*O*-acétylé n'était pas commercial. Il est obtenu en trois étapes à partir du 1,2,3,4,6-penta-*O*-acétyl- α -D-glucopyranose commercial¹⁰⁴, et le rendement global de synthèse est médiocre.

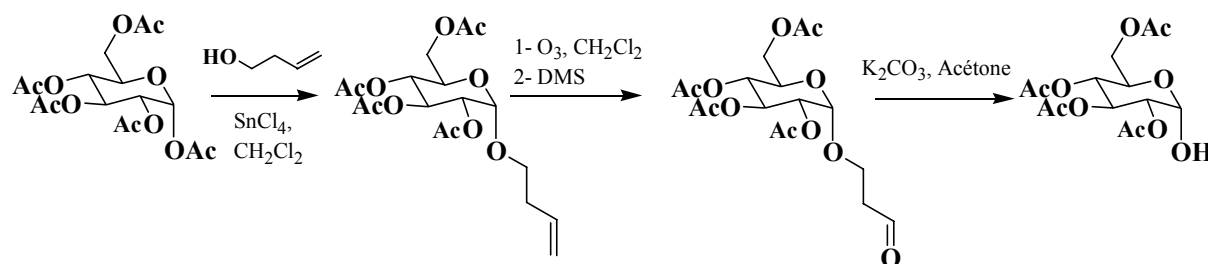


Figure 191 : Synthèse du 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- α -D-glucopyranose.

¹⁰³ Ohkubo M. ; Nishimura T. ; Jona H. ; Honma T. ; Ito S. ; Morishima H. *Tetrahedron*, **1997**, 53, 5937-5950.

¹⁰⁴ Bayle C. ; Defaye J. ; Horton D. ; Lehman J. ; Scheuring M. ; *Carbohydr. Res.*, **1992**, 232, 375-380.

Nous avons donc décidé de nous orienter vers l'utilisation du sucre tétra-*O*-benzylé **V** commercial.

Le couplage a été effectué sur le composé **IX** déjà préparé auparavant au laboratoire par Christelle Marminon à partir du dibromomaléimide

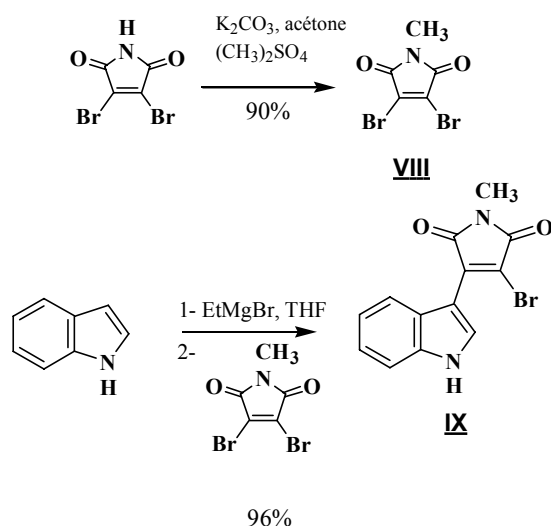


Figure 192 : Synthèse des composés **VIII** et **IX**.

La réaction a été effectuée dans le THF en présence de 2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- α -D-glucopyranose **V**, de triphénylphosphine et de DIAD. Le composé **78** désiré est isolé avec un rendement de 94%. Il est à noter que l'atome de brome électroattracteur est indispensable pour que la réaction de couplage s'effectue.

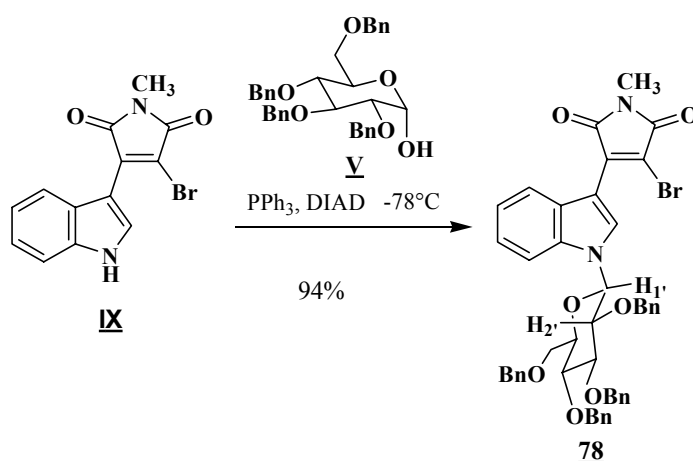


Figure 193 : Couplage de Mitsunobu sur le composé **IX**.

La configuration β de la liaison *N*-glycosidique a pu être établie sans ambiguïté à partir de la constante de couplage déterminée sur le spectre de RMN ^1H sur le signal du proton $\text{H}_{1\beta}$ à 5,45 ppm entre les protons $\text{H}_{1\beta}$ et $\text{H}_{2\beta}$ ($J_{\text{axiale-axiale}} = 9,0 \text{ Hz}$).

2. Synthèse du composé final

a) Stratégie de synthèse

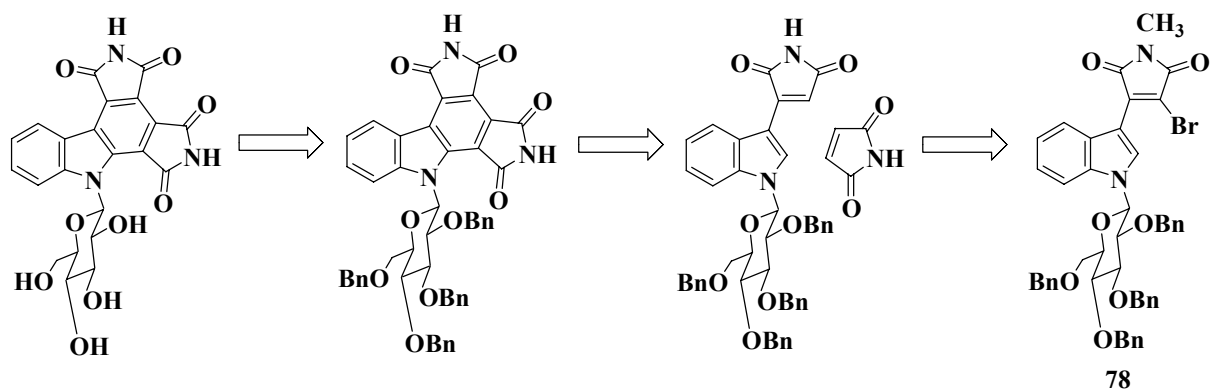


Figure 194 : Schéma rétrosynthétique.

L'élimination du groupement méthyle a été envisagée avant la réaction de Diels-Alder car la réactivité du deuxième imide après la cycloaddition pourrait gêner la réaction d'élimination du méthyle : en effet, la méthode de déprotection du méthyle fait intervenir une attaque nucléophile sur un des carbonyles de l'imide. D'autre part, nous avons choisi de conserver les groupements benzyles sur le sucre le plus longtemps possible dans la synthèse afin de maintenir une bonne solubilité des composés préparés dans les solvants organiques.

b) Accès au composé déprotégé pour la réaction de Diels-Alder

Dans un premier temps l'atome de brome a été supprimé par hydrogénolyse. Le composé **78** a été hydrogéné en présence de palladium sur charbon et d'hydrogénocarbonate de sodium dans l'acétate d'éthyle (Figure 196), conditions mises au point par Samir Messaoudi en série 7-azaindole au cours de sa thèse (Figure 195). Les groupements benzyles étaient alors conservés, vraisemblablement par empoisonnement du catalyseur par la pyridine de l'azaindole.

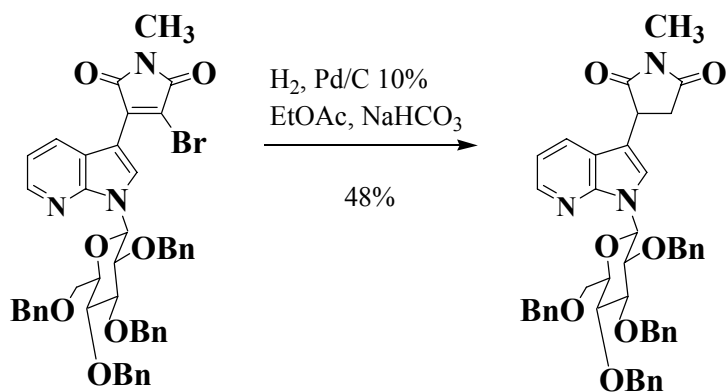


Figure 195 : Hydrogénolyse en série 7-azaindole.

Cependant, cette méthode ne nous a pas permis d'obtenir le composé attendu. Dans notre cas l'absence de base azotée qui empoisonnait la catalyseur conduit vraisemblablement à des débenzylations partielles.

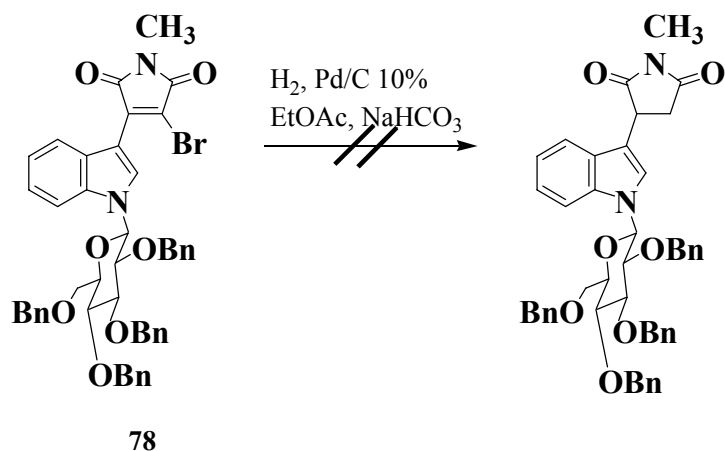


Figure 196 : Hydrogénolyse du composé **78**.

Nous avons alors envisagé une hydrogénation dans les conditions décrites par Sajiki *et al.*^{80,81} : en présence de 0,5 équivalent de base azotée (pyridine, triéthylamine, ammoniacque), les groupements benzyloxy peuvent être conservés au cours de l'hydrogénolyse.

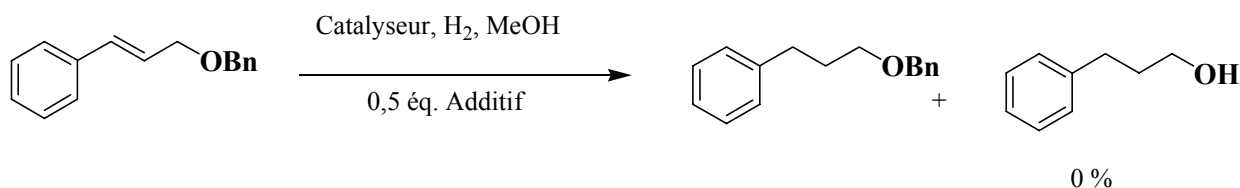
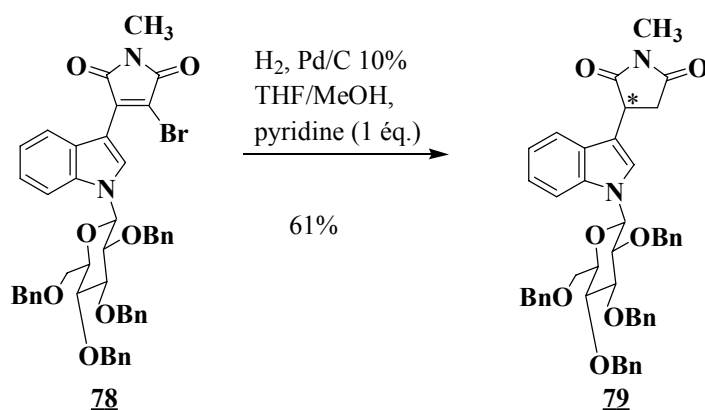


Figure 197 : Hydrogénation en présence d'une base azotée.

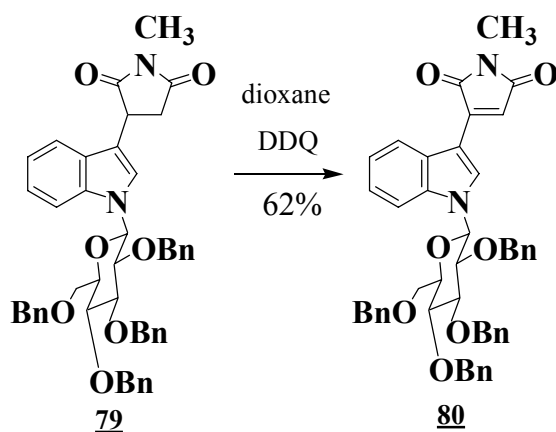
Dans ces conditions, le composé **79** est obtenu sous la forme d'un mélange de deux diastéréoisomères non-séparables avec un rapport de 0,69/1 (mesuré d'après le spectre de RMN ¹H sur les signaux à 3,47 et 3,50 pm). Un équivalent de pyridine a été nécessaire pour éviter la débenzylation. Une quantité inférieure a conduit à un mélange de composés partiellement débenzylés.

⁸⁰ Sajiki H. ; Kuno H. ; Hirota K. *Tetrahedron. Lett.*, **1998**, 39, 7127-7130.

⁸¹ Sajiki H. ; Hirota K. *Tetrahedron*, **1998**, 54, 13981-13996.

Figure 198 : Hydrogénation selon la méthode de Sajiki *et al.*

Le mélange est alors oxydé au DDQ dans le dioxane à température ambiante. Le composé **80** est isolé avec un rendement de 62%.

Figure 199 : Oxydation au DDQ du composé **79**.

A ce stade de la synthèse, nous avons envisagé la déprotection de la fonction imide. Une méthode déjà employée au laboratoire permet la conversion d'un *N*-méthyl-imide en imide non-substitué en deux étapes : préparation de l'anhydride dans une solution aqueuse de soude à reflux et traitement à l'acétate d'ammonium anhydre à 140 °C.^{69,74,105} Bernadette Hugon au cours de sa thèse avait effectué la synthèse de l'anhydride **X** avec un rendement de 66%.

⁶⁹ Hugon B. ; Pfeiffer B. ; Renard P. ; Prudhomme M. *Tetrahedron Lett.*, **2003**, 44, 3935-3937.

⁷⁴ Marminon C. ; Anizon F. ; Moreau P. ; Léonce S. ; Pierré A. ; Pfeiffer B. ; Renard P. ; Prudhomme M. *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 1330-1339.

¹⁰⁵ Brenner M. ; Rexhausen H. ; Steffan B. ; Steglich W. *Tetrahedron*, **1988**, 44, 2887.

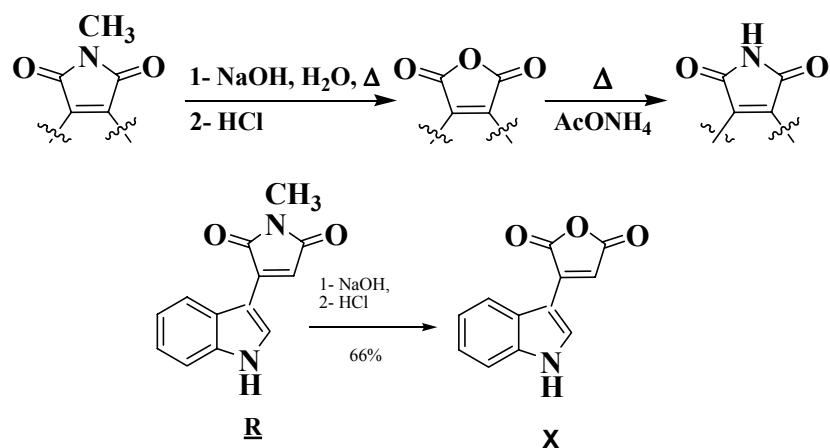


Figure 200 : Déprotection de la fonction imide et synthèse du composé **X**.

Le composé **80** est porté à reflux dans un mélange eau/THF en présence de 13 équivalents de NaOH. Le THF a été utilisé pour augmenter la solubilité du produit de départ dans le milieu réactionnel. Après traitement en milieu acide, aucun composé identifiable n'a été isolé mise à part une faible quantité de produit de départ. La forte coloration de la phase aqueuse lors de l'extraction suggère qu'après attaque de l'hydroxyde, l'hétérocycle supérieur s'est bien ouvert mais que la refermeture en anhydride n'a pas eu lieu. Cette différence de réactivité par rapport à l'exemple précédemment cité est due à la présence du substituant sur l'indole.

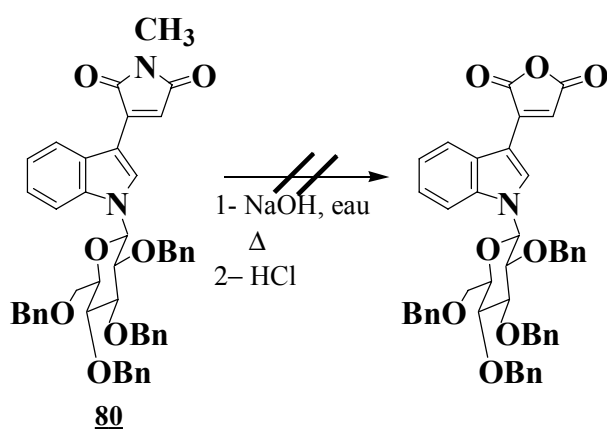


Figure 201 : Essais de déprotection de la fonction imide à partir du composé **80**.

Un autre groupement protecteur a donc été envisagé. Nous avons choisi le groupement benzyloxyméthyle, BOM, déjà utilisé au laboratoire.

B. Synthèse utilisant un BOM comme groupement protecteur

1. Stratégie de synthèse

Nous avons suivi la même voie de synthèse que celle mise au point pour accéder au composé **80**. L'élimination du groupement BOM s'effectue généralement par hydrogénolyse puis

aminolyse et pourra donc être envisagée en fin de synthèse en même temps que les groupements benzyles du sucre, ceci afin de maintenir une bonne solubilité des composés le plus loin possible dans la synthèse.

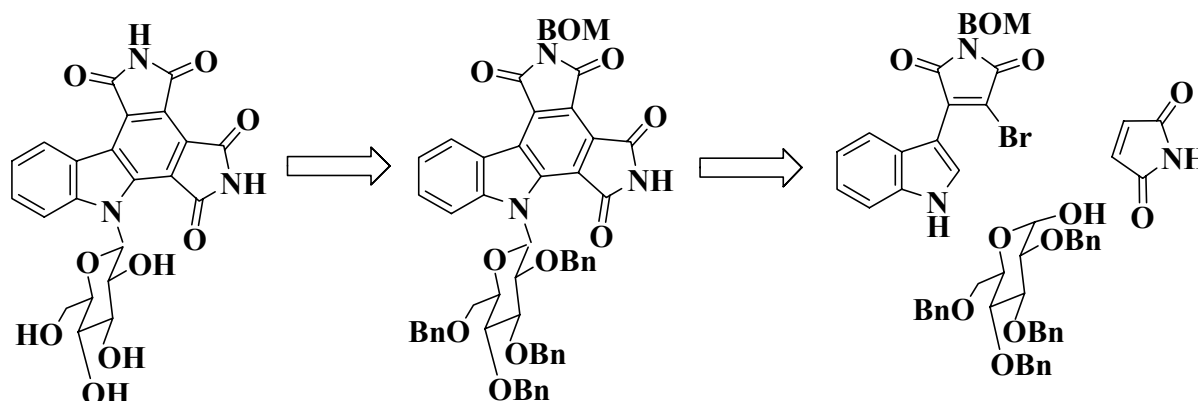


Figure 202 : Stratégie de synthèse en série BOM.

2. Glycosylation et réaction de Diels-Alder

Le groupement BOM a déjà été utilisé au laboratoire par Christelle Marminon pour la synthèse d'analogues de la rébeccamycine. Ce travail a conduit à la préparation du composé **VII**. Celui-ci a été préparé en deux étapes à partir du dibromomaléimide. La protection par un BOM du dibromomaléimide commercial s'effectue en présence de carbonate de potassium et chlorure de benzyloxyméthyle pour accéder au composé **XI**. Le composé **VII** est alors obtenu par réaction de Grignard entre le bromure d'indolyte magnésium et le *N*-BOM-dibromomaléimide.

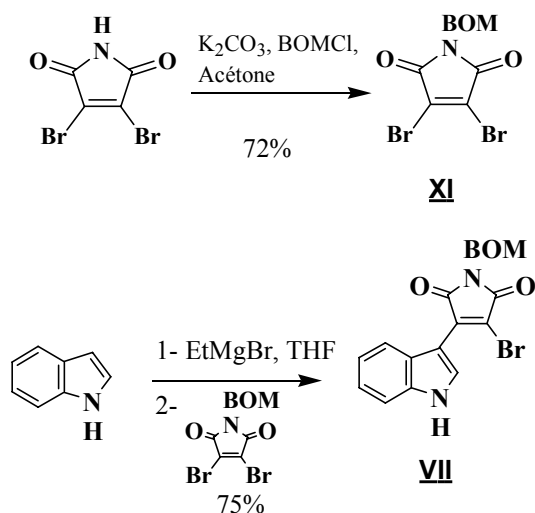


Figure 203 : Etapes de protection du dibromomaléimide et réaction de Grignard.

L'introduction du sucre a été effectuée par la réaction de Mitsunobu décrite précédemment pour la préparation du composé **78** (Figure 193). Le composé **81** est obtenu avec un rendement de 92%. L'hydrogénation/hydrogénolyse est effectuée dans un mélange

méthanol/THF en présence d'1 équivalent en pyridine pour conserver les groupements protecteurs, ce qui conduit à l'obtention du succinimide **82** sous la forme d'un mélange de deux diastéréoisomères dans un rapport 0,82/1 (mesuré d'après le spectre de RMN ^1H sur les signaux à 2,85 et 2,92 ppm), avec un rendement de 58%. Le maléimide **83** est également obtenu en mélange avec le produit de départ. L'oxydation de **82** dans le dioxane en présence de DDQ conduit au composé **83** avec un rendement de 91%. La réaction de Diels-Alder, menée dans le xylène à reflux, a permis d'isoler deux diastéréoisomères **84a** et **84b** séparables par chromatographie sur gel de silice.

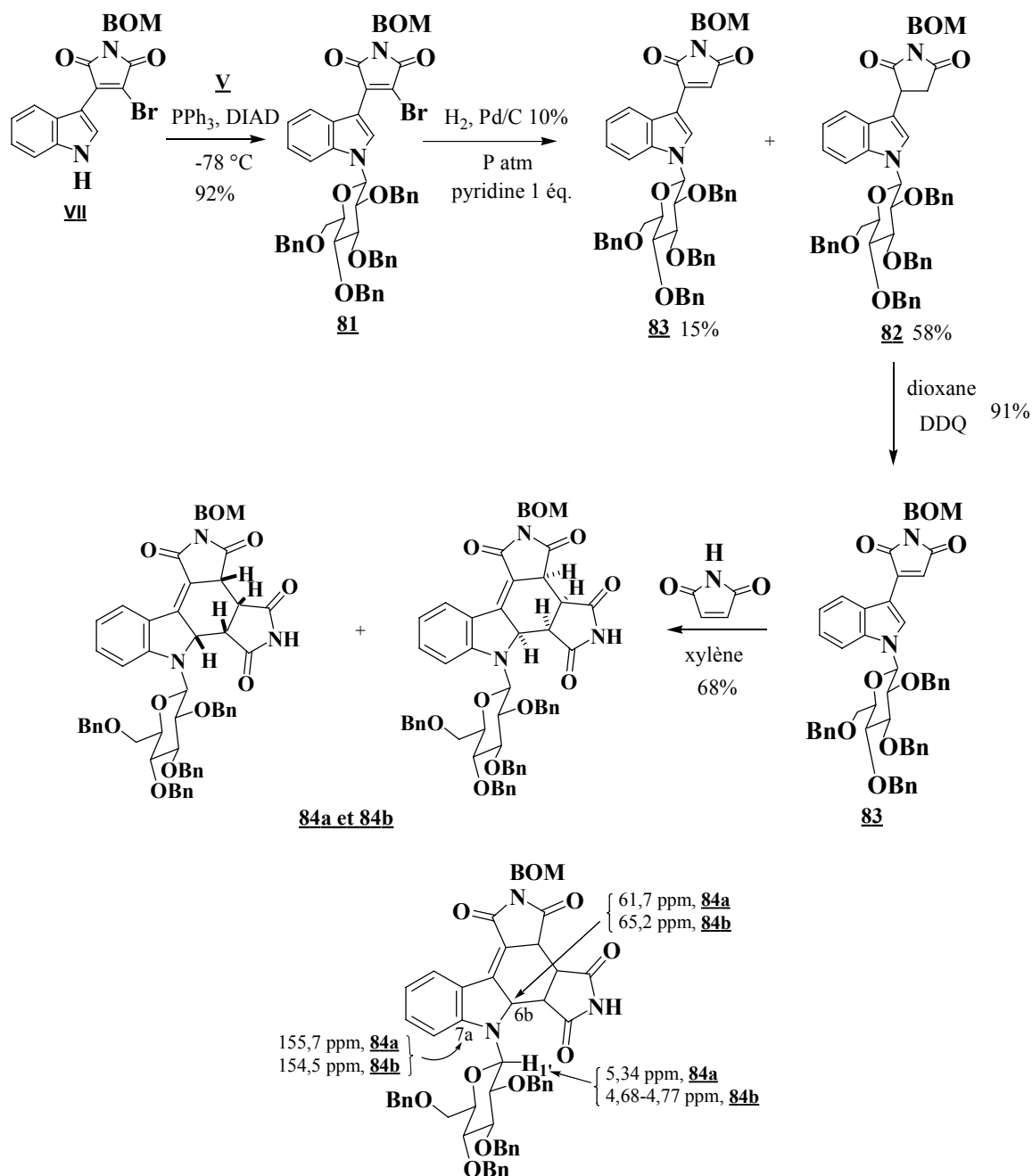


Figure 204 : Synthèse des composés **84a** et **84b**.

Ces deux composés présentent des caractéristiques spectroscopiques très proches. Après des analyses par RMN, nous avons déterminé sans ambiguïté qu'il s'agit des isomères indolines. Ceci a été montré d'après les couplages ^1H - ^{13}C longue distance (3J) qui existent entre le proton H_1 et deux carbones de l'indoline dont l'un est porteur d'un hydrogène (C_{6b}) (**Figure 204**), ce qui indique que nous sommes bien en présence d'indolines.

Seule la cristallographie au rayons X pourrait nous permettre de connaître la stéréochimie exacte de chacun des isomères.

Plusieurs essais ont été effectués afin d'améliorer le rendement de cette réaction (**Tableau 25**).

Essais	solvant	Nb éq. maléimide	T°C et temps	Rendements %
1	xylène	1,05	Reflux 20 h	68
2	toluène	1,2 + 0,3	Reflux 20 h	54
3	toluène	5	Reflux 24 h	91
4	toluène anhydre	5	Reflux 19 h	94

Tableau 25 : Essais de réaction de Diels-Alder.

L'essai 1 nous avait permis d'isoler les composés **84** avec un rendement de 68%. Or nous avons observé des produits de dégradation. Afin de diminuer la température du reflux nous avons effectué un autre essai dans le toluène à reflux. Les composés **84** sont obtenus avec un rendement de 54% car il restait du produit de départ. L'introduction de 5 équivalents de maléimide a permis d'obtenir le composé oxydé avec un excellent rendement de 91%. Ce rendement a été amélioré avec l'utilisation de toluène anhydre (94%).

3. Oxydation des composés **84**

Les aromatisations ont été menées sur chacun des composés **84a** et **84b** séparément.

Le premier essai d'oxydation a été effectué dans les conditions habituellement employées, en présence de DDQ dans le dioxane à reflux. Seul le composé **84a** a conduit au composé **85** attendu avec un rendement de 35%. Ce faible rendement est dû à une décomposition dans le milieu réactionnel.

Plusieurs essais supplémentaires ont été effectués afin d'accéder à des meilleures conditions d'aromatisation (**Tableau 26**). Dans le toluène à température ambiante en présence de DDQ, le rendement a été amélioré pour **84a** mais la réaction est lente, ce qui a également été observé pour **84b**. Le chauffage à reflux, dans le cas du **84b**, a conduit à des produits de dégradation. Nous avons donc décidé de changer d'oxydant.

Terpin *et al.*¹⁰⁶ ont décrit pour la préparation de dérivés de la granulitimide l'étape d'aromatisation en présence d'oxyde de manganèse dans le dichlorométhane.

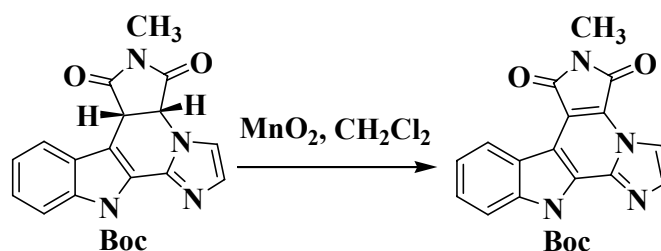


Figure 205 : Oxydation de dérivé de la granulitimide par Terpin *et al.*

Nous avons essayé ces conditions. A partir du composé **84a**, le composé **85** a été obtenu avec un rendement de 53% (Figure 206). Aucune dégradation n'est observée. Cependant, la réaction est lente. Pour augmenter la température de la réaction, nous avons employé comme solvant le chloroforme. Nous avons ainsi obtenu le composé **85** avec des rendements de 73% et 75% respectivement à partir de **84a** et **84b**. Nous avons observé de meilleurs résultats lorsque l'ajout en MnO₂ est progressif pendant le temps de réaction.

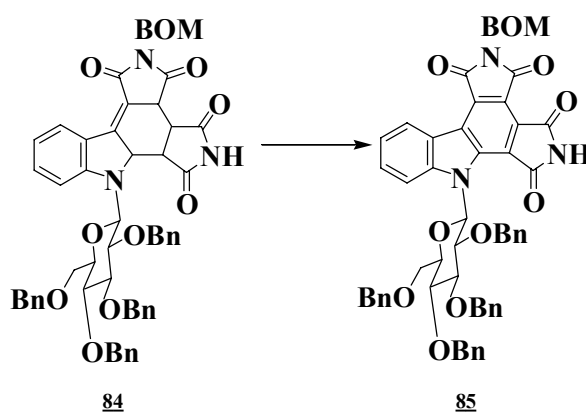


Figure 206 : Aromatisation des composés **84**.

Composés	Conditions	Rendements %
----------	------------	--------------

¹⁰⁶ Terpin A. ; Winklhofer C. ; Schumann S. ; Steglich W. *Tetrahedron*, **1998**, 54, 1745-1752.

<u>84a</u>	DDQ (2,05 éq.), dioxane, reflux, 20 h	35
<u>84b</u>	DDQ (2,05 éq.), dioxane, reflux, 20 h	Dégradation
<u>84a</u>	DDQ (2,05 éq.), toluène anhydre t.a., 30 h	47
<u>84b</u>	DDQ (2,5 éq.), toluène anhydre 24 h à t.a. puis 1 h à reflux	Dégradation
<u>84a</u>	20 éq. MnO ₂ , CH ₂ Cl ₂ 20 h à t.a., puis 4 jours à 40 °C	53
<u>84a</u>	20 éq. MnO ₂ , CHCl ₃ , reflux 65 h	73
<u>84b</u>	20 éq. MnO ₂ , CHCl ₃ , reflux 65 h	75

Tableau 26 : Essais d'oxydation.

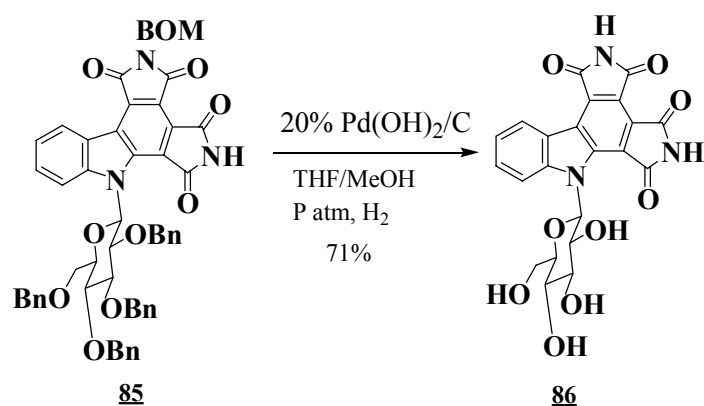
4. Déprotection

Les groupements benzyloxyméthyle ou benzyle sont couramment éliminés par hydrogénolyse. Le composé **85** a été hydrogéné en présence du catalyseur de Pearlman (l'hydroxyde de palladium 20% supporté sur charbon) dans un mélange acétate d'éthyle/éthanol à pression atmosphérique.⁹⁴ Le composé **86** a été obtenu avec un faible rendement de 11%. Ce rendement n'est pas très bon car nous avons observé en CCM beaucoup de produits vraisemblablement issus de débenzylations partielles. Un autre essai est effectué dans les mêmes conditions sur une plus grosse quantité de produit de départ et conduit au composé **86** avec un rendement de 46%.

Afin d'augmenter la solubilité du produit de départ, nous avons effectué la réaction dans un mélange THF/méthanol.¹⁰⁰ Le composé déprotégé est alors isolé avec un rendement de 71% (**Figure 207**). On peut noter qu'une hydrogénolyse seule a permis la déprotection totale du groupement BOM qui est généralement éliminé sur les imides par hydrogénolyse suivie d'une aminolyse.

⁹⁴ Gallant M. ; Link J. T. ; Danishefsky S. J. *J. Org. Chem.*, **1993**, 58, 343-349.

¹⁰⁰ Faul M. M. ; Winkler L. L. ; Krumrich C. A. *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 2465-2470.

Figure 207 : Déprotection du composé **85**.

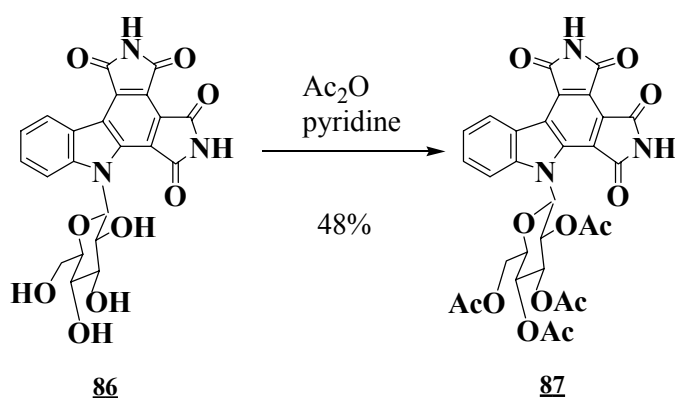
Nous disposons maintenant du composé possédant un glucose sur l'azote indolique. La synthèse a été poursuivie à partir du composé **86** analogue du composé **1** pour modifier la partie osidique.

5. Modification de la partie osidique

a) Accès au sucre acétylé

Dans un brevet récent concernant la synthèse de dérivés d'isoindigo, d'indigo et d'indirubucine, les composés acétylés ont montré de meilleures activités antiprolifératives que leurs analogues hydroxylés probablement en raison d'une meilleure pénétration cellulaire.¹⁰⁷

Nous avons décidé d'effectuer l'acétylation sur le composé **86**. Le composé **86** a été dissous dans la pyridine en présence d'anhydride acétique. Le composé **87** attendu est obtenu avec un rendement non-optimisé de 48% (**Figure 208**).

Figure 208 : Acétylation du composé **86**.

¹⁰⁷ Wang L. ; Liu X. ; Chen R. WO03051900 (2003) CA 139:47135.

b) L'amine en 6'

L'introduction d'une amine sur la partie osidique devrait permettre d'augmenter considérablement la solubilité dans l'eau, comme cela a déjà été observé pour les analogues de la rébeccamycine. La fonction amine est présente sur la partie osidique dans plusieurs composés naturels comme la doxorubicine. Cette fonction amphiphile permet de traverser plus facilement les barrières biologiques et ainsi d'accéder au divers compartiments cellulaires.

La méthode développée au laboratoire pour la synthèse d'analogues de la rébeccamycine permet l'accès à des amines en position 6' à partir du sucre non-protégé.¹⁰⁸ Pour accéder à l'amine **XII**, la position 6' est tout d'abord chlorée puis une fonction azoture est introduite qui après réduction conduit à l'amine primaire (**Figure 209**).

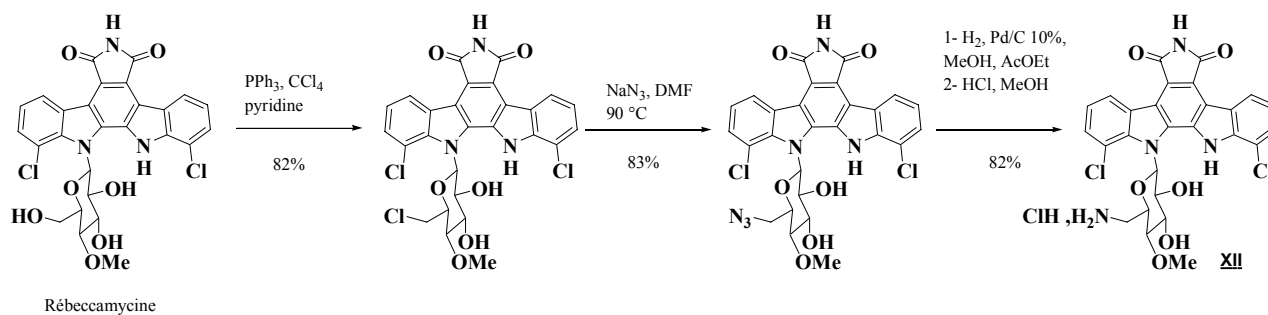


Figure 209 : Synthèse d'analogue de la rébeccamycine avec une amine en position 6' du sucre.

Nous avons décidé d'appliquer cette méthode.

(1) Accès à l'azoture

Le composé **88** (**Figure 211**) est obtenu dans la pyridine en présence de triphénylphosphine et de tétrachlorure de carbone avec un rendement de 76%. Au cours du traitement du milieu réactionnel, un lavage au dichlorométhane permet d'éliminer l'excès de triphénylphosphine et l'oxyde de triphénylphosphine, ce qui permet de faciliter la purification par chromatographie sur silice. En RMN ¹H, on note bien la disparition du triplet correspondant à l'hydroxyle en 6'. En RMN ¹³C, le C_{6'} est blindé (de 61,0 ppm à 45,1 ppm) en raison de la présence du chlore.

¹⁰⁸ Anizon F. ; Moreau P. ; Sancelme M. ; Laine W. ; Bailly C. ; Prudhomme M. *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, 11, 3709-3722.

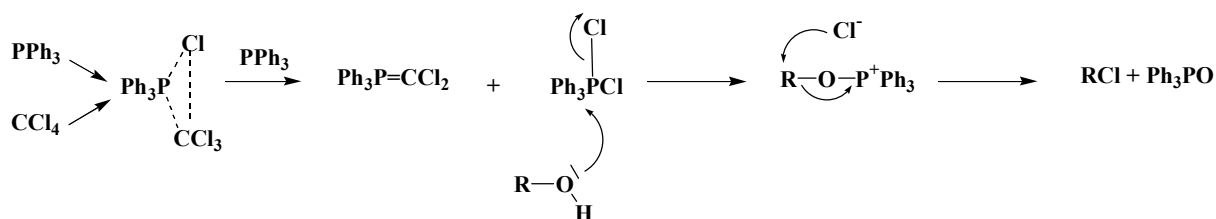
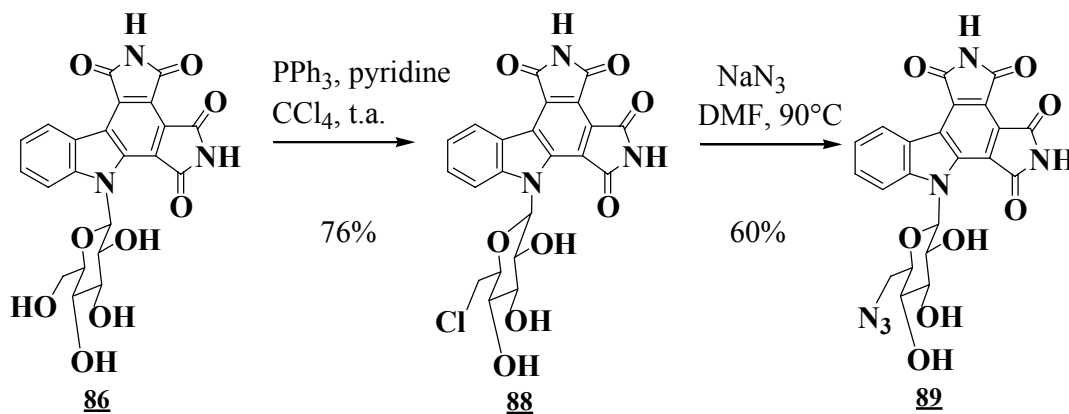


Figure 210 : Mécanisme de formation du dérivé chloré en 6□

La substitution nucléophile suivante est effectuée par chauffage à 90 °C dans le DMF en présence de 10 équivalents d'azoture de sodium pendant 65 heures. Comme il a déjà été observé au laboratoire, le spectre RMN ^1H de l'azoture est très similaire à celui du produit de départ. La structure du composé est confirmée par le déplacement chimiques du C_{60} en RMN ^{13}C (45,1 à 51,2 ppm) et surtout par la présence d'une bande IR à $\nu = 2105\text{ cm}^{-1}$. Le composé **89** est isolé avec un rendement de 60%.

Figure 211 : Accès à l'azoture **89**.

(2) Accès à l'amine en 6□: réduction de l'azoture

La réduction de l'azoture a tout d'abord été envisagée dans les conditions classiques d'hydrogénation en présence de palladium sur charbon à pression atmosphérique. Dans ces conditions, en CCM, un composé très polaire se forme mais il reste aussi du produit de départ. Nous pensions qu'un lavage acido-basique nous aurait permis de séparer le produit de départ et le produit formé (supposé être l'amine) étant donné leur différence de solubilité en milieu acide. Cependant, le produit polaire formé reste dans la phase aqueuse au cours de l'extraction à l'acétate d'éthyle après passage en milieu basique (NaHCO_3), ce qui semble indiquer que le produit formé n'est pas l'amine désirée.

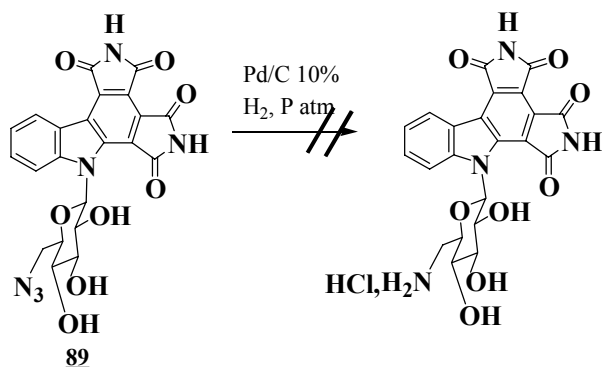
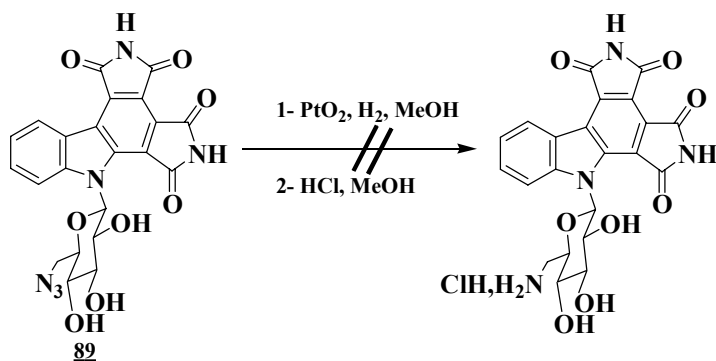


Figure 212 : Premier essai de réduction de l'azoture.

L'hydrogénation de l'azoture a été essayée en présence d'un autre catalyseur, le catalyseur d'Adams. L'analyse en spectrométrie de masse montre la présence d'un pic correspondant au composé attendu. Cependant, la présence de beaucoup d'impuretés (observées en RMN ^1H) et l'échec des purifications entreprises ne nous a pas permis d'isoler l'amine attendue.

Figure 213 : Hydrogénation avec PtO_2 .

Nous avons alors envisagé la réaction de Staudinger de réduction d'azotures en amines primaires.¹⁰⁹ La réaction de Staudinger correspond à la formation d'un iminophosphorane par traitement d'un azoture par la triphénylphosphine. L'hydrolyse de l'imino-phosphorane conduit à l'amine primaire avec d'excellents rendements (Figure 214).

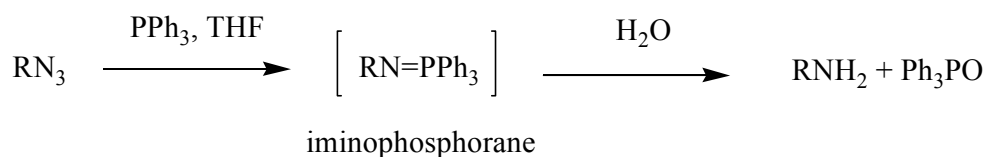


Figure 214 : Réaction de Staudinger sur les azotures.

Nous avons appliqué cette méthode sur le composé **89**. Une analyse en spectrométrie de masse nous a montré la présence d'un pic de masse correspondant à l'amine. Malheureusement, nous n'avons pas réussi à l'isoler car nous avons rencontré des problèmes de purification liés à la formation de l'oxyde de triphénylphosphine ainsi qu'à la présence d'autres sous-produits de réaction non identifiés.

¹⁰⁹ Vaultier M. ; Knousi N. ; Carrie R. ; *Tetrahedron Lett.*, **1983**, 24,763-764.

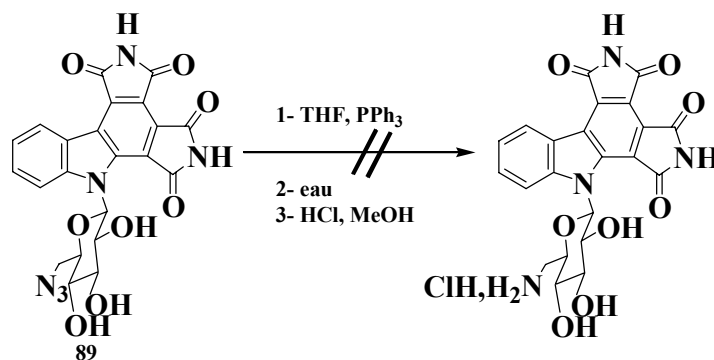


Figure 215 : Essai de réduction de Staudinger sur l'azoture.

En raison de la mauvaise qualité des spectres de RMN ^1H obtenus au cours des tentatives de réduction précédentes, nous nous sommes interrogés sur la stabilité de l'amine formée. Nous avons donc effectué l'hydrogénation en présence d'acide chlorhydrique de manière à former le chlorhydrate de l'amine *in situ*.¹¹⁰ Une simple filtration sur Célite et l'évaporation du milieu réactionnel permet alors d'obtenir le chlorhydrate **90** avec un rendement de 98%.

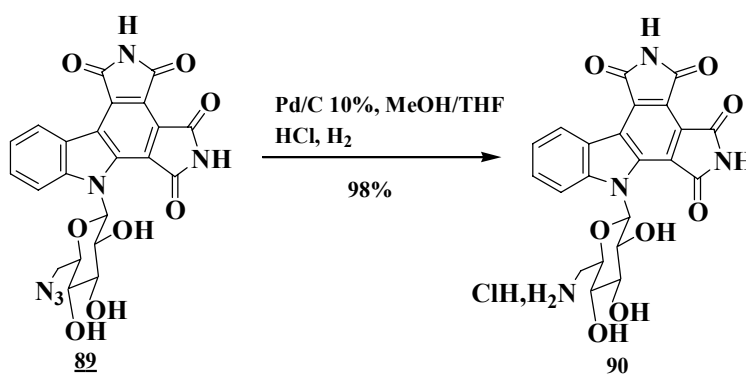


Figure 216 : Obtention de l'amine en 6^e du sucre.

III. Introduction d'une chaîne portant un résidu aminoacide

Une autre partie de ce travail concernant l'introduction de groupement solubilisant a consisté en l'introduction d'une chaîne portant un résidu aminoacide sur l'azote indolique.

A. Première stratégie

Dans un premier temps, nous avons envisagé l'introduction d'un bras espaceur intermédiaire comme cela avait déjà été effectué au laboratoire par Pascale Moreau sur des maléimideindolocarbazoles (Figure 217).¹¹¹

¹¹⁰ Hong F. ; Zaidi J. ; Cusack B. ; Richelson E. *Bioorg. Med Chem*, **2002**, 10, 3849-3858.

¹¹¹ Moreau P. ; Sancelme M. ; Bailly C. ; Léonce S. ; Pierré A. ; Hickman J. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *J. Med. Chem.*, **2001**, 36, 887-897.

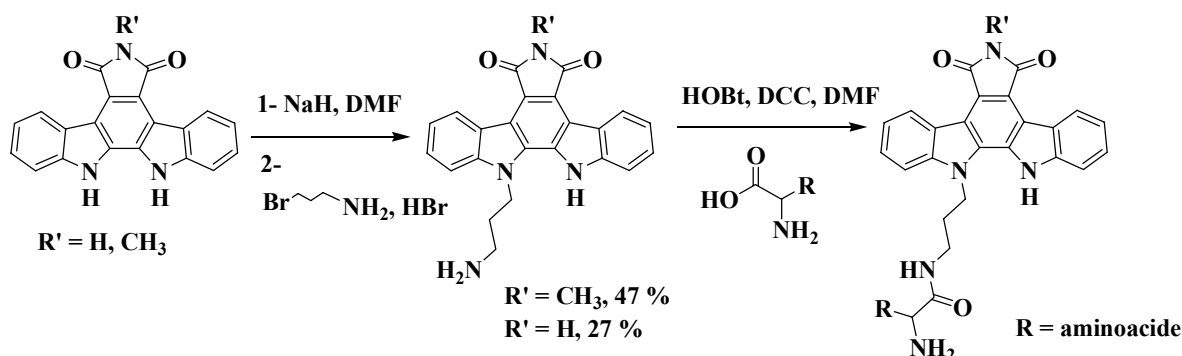


Figure 217 : Synthèse d'indolocarbazoles contenant un résidu aminoacide décrite par Pascale Moreau *et al.*

1. Essais sur le composé **1** sans protection

Cette méthode appliquée au composé **1** en présence de 4 équivalents de NaH dans le DMF, n'a pas permis d'obtenir le composé attendu. Une partie seulement du produit de départ est récupérée. Il est possible qu'une partie du produit de départ (et peut-être du produit formé) se soit décomposée au cours du traitement par ouverture des hétérocycles imidiques. Cette ouverture pourrait être provoquée par l'attaque des ions OH^- formés au cours de l'hydrolyse en présence de NaH.

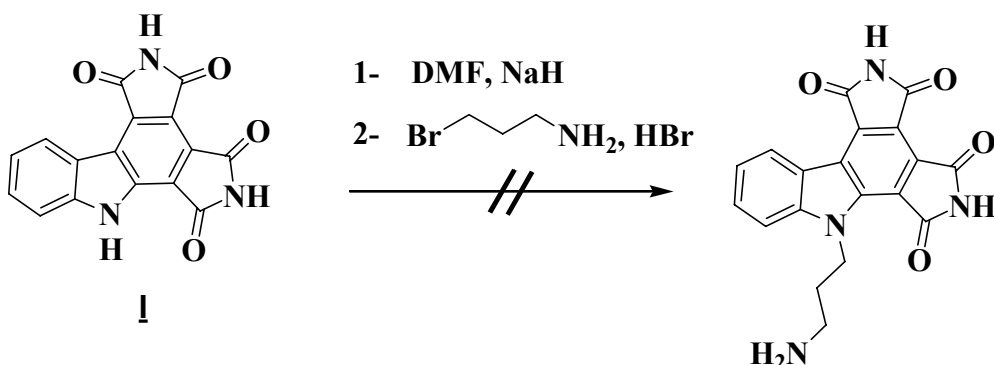


Figure 218 : Essai de couplage de la 3-bromopropylamine.

Nous avons effectué un autre essai en utilisant du fluorisil pour neutraliser l'excès de base restant en fin de réaction. Malheureusement, l'insolubilité des composés ne permet pas d'effectuer de chromatographie.

Afin d'introduire la chaîne aminoalkyle, nous avons effectué un autre essai en nous inspirant des travaux de Bailey *et al.*¹¹² qui introduisent une chaîne sur l'azote indolique avec l'acrylonitrile comme réactif. La chaîne cyanoéthyle pourra être hydrogénée pour accéder à la chaîne aminopropyle.

¹¹² Bailey S. ; Scott P. W. ; Vandervala M. H. *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1*, **1980**, 97-101.

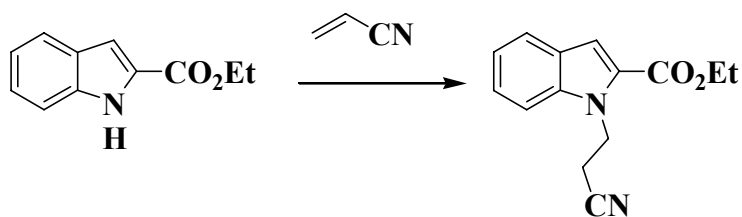


Figure 219 : Introduction d'un groupement cyanoéthyle sur l'azote indolique.

En présence d'acrylonitrile et de NaH, aucune réaction ne se produit, probablement en raison du manque de solubilité du composé **1** dans le THF.

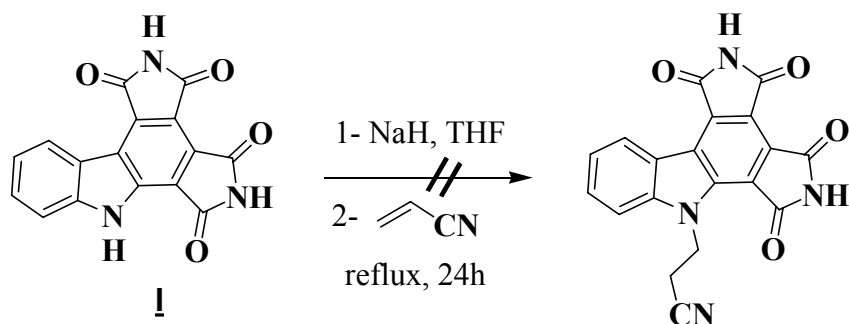


Figure 220 : Essais avec l'acrylonitrile.

Afin de remédier aux problèmes de solubilité du composé **1**, nous avons envisagé l'introduction de groupements protecteurs solubilisants sur les imides. De plus, la présence des groupements protecteurs sur les imides permettra d'effectuer l'alkylation sélectivement sur l'azote indolique.

2. Essais de couplage à partir du composé **1** protégé

a) Protection de imides

Nous avons envisagé la protection des imides avec des groupements benzyloxyméthyles comme pour le composé **71** déjà décrit au cours de ce travail (Figure 152). La di-protection a été mise au point par Nathalie Kucharczyk sur le composé **P**. Nous avons montré que cette réaction peut être effectuée sur l'un ou l'autre des isomères **P** ou **Q**. La réaction est effectuée dans l'acétone anhydre à température ambiante en présence de diisopropyléthylamine et de BOMCl. Après traitement et purification, le composé **91** est obtenu avec rendement de 78%. Celui-ci est alors aromatisé en présence de DDQ dans le dioxane à reflux pour conduire au composé **92** avec un rendement de 97%.

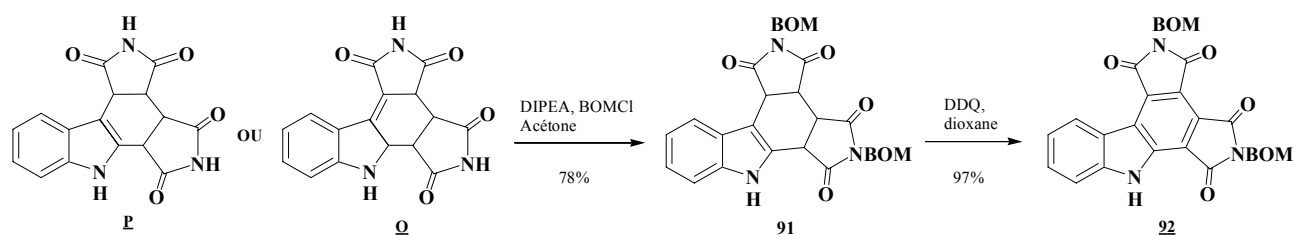


Figure 221 : Protection des imides.

Comme nous nous y attendions, la solubilité du composé **92** est supérieure à celle du composé **1**. De plus, les fonctions imides étant maintenant protégées, l'alkylation pourra s'effectuer sélectivement sur l'azote indolique.

b) Introduction des chaînes sur le composé **92**

(1) Introduction d'un 3-aminopropyle avec le carbonate de césium

Nous avons tenté l'introduction de la chaîne 3-aminopropyle en utilisant comme base le carbonate de césium dans le DMF.⁵⁰ Malheureusement, aucune réaction n'est observée et le produit de départ est récupéré.

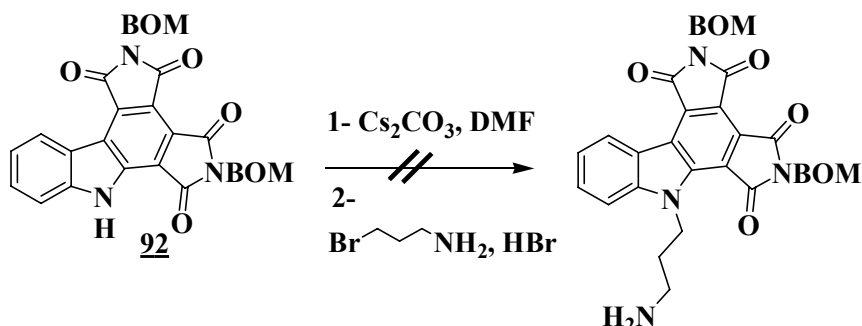


Figure 222 : Essai de couplage de la 3-bromopropylamine avec le carbonate de césium.

(2) Introduction d'un 2-cyanoéthyle avec le Triton B

Smith¹¹³ décrit l'introduction d'une chaîne cyanoéthyle sur des carbazoles en utilisant comme base l'hydroxyde de benzyltriméthylammonium (Triton B).

⁵⁰ O'Neill D. J. ; Shen L. ; Prouty C. ; Conway B. R. ; Westover L. ; Xu J. Z. ; Zhang H-C. ; Maryanoff B. E. ; Murray W. V. ; Demarest K. T. ; Kuo G-H. *Bioorg. Med. Chem.*, **2004**, 12, 3167-3185.

¹¹³ Smith N. L. *J. Am. Chem. Soc.*, **1950**, 72, 4313-4314.

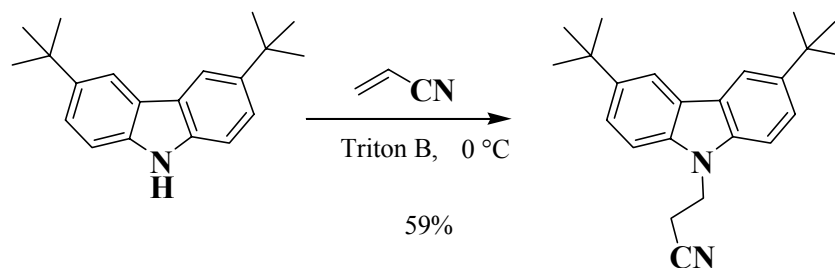
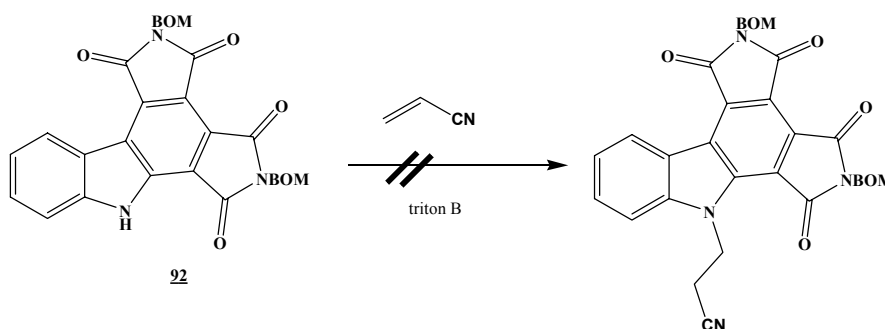


Figure 223 : Cyanoéthylation d'un dérivé du carbazole.

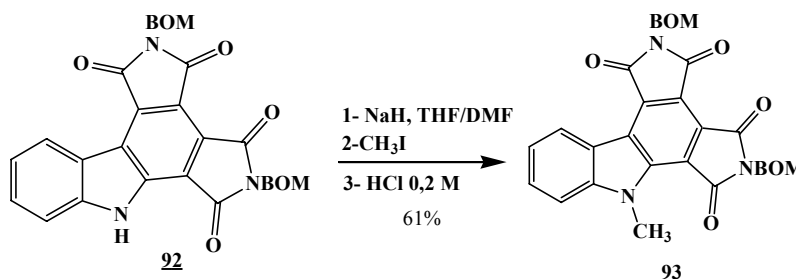
Nous avons appliqué cette méthode au composé **92**. Malheureusement, aucun produit de couplage n'a été observé, la présence des imides diminue la nucléophilie de l'anion de l'indole.

Figure 224 : Méthode de synthèse de Smith sur le composé **92**.

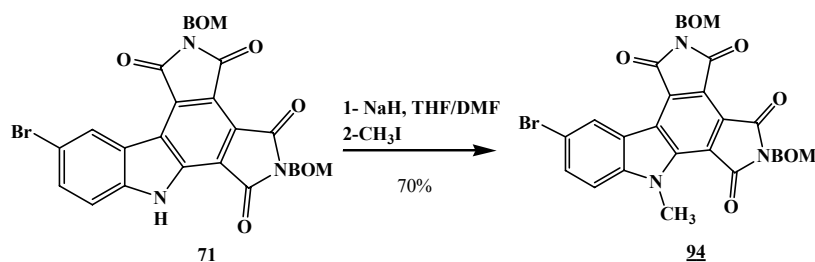
Suite à ces tentatives infructueuses, nous avons voulu vérifier s'il était possible d'introduire un groupement alkyle sur l'azote indolique en effectuant une réaction test avec le iodométhane.

(3) Méthylation de l'azote indolique

Le composé **92** est alkylé dans le DMF en présence de NaH et d'iodure de méthyle. Afin d'éviter l'ouverture du maléimide en milieu basique lors de l'hydrolyse, cette dernière a été effectuée à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique 0,2 M. Le composé **93** est ainsi obtenu après purification par chromatographie sur gel de silice avec un rendement de 61%.

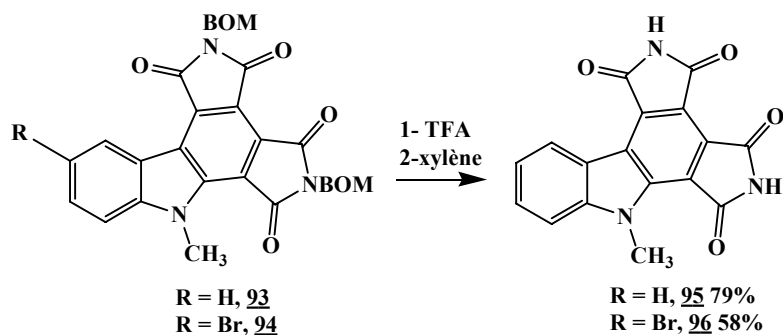
Figure 225 : Méthylation du composé **92**.

L'alkylation a également été effectuée sur le composé **71**, bromé en position 10. Le composé **94** est obtenu avec un rendement de 70%.

Figure 226 : Méthylation du composé **71**.

Nous avons montré que l'alkylation était possible sur l'azote indolique en présence d'iodure de méthyle. Afin de valoriser cette synthèse, il convient d'accéder aux produits finaux complètement déprotégés.

La déprotection du composé **93** a été effectuée dans l'acide trifluoroacétique à reflux.⁸² L'analyse du produit obtenu par RMN ¹H indique que la déprotection n'est pas totale : les benzyles n'apparaissent plus. L'absence des signaux des azotes imidiques indique que nous sommes vraisemblablement en présence des intermédiaires bis-*N*-hydroxyméthylmaléimide. Cependant, à ce stade, l'aminolyse habituellement employée pour obtenir l'imide libre (NH₄OH), n'est pas compatible avec nos composés, car ils sont particulièrement sensibles aux milieux basiques nucléophiles. Nous avons donc opté pour une voie thermique dans le xylène à reflux.¹¹⁴ Le composé **95** déprotégé est alors obtenu avec un rendement, pour les deux étapes, de 79%. Le composé **94** est déprotégé dans les mêmes conditions et le composé **96** est obtenu avec un rendement de 58%.

Figure 227 : Déprotection des composés **93** et **94**.

L'introduction d'un motif alkyle sur l'azote indolique est donc possible. Nous n'avons cependant pas poursuivi dans cette voie, une autre stratégie a été mise en oeuvre.

⁸² DeFrees S. A. ; Reddy K. S. ; Cassady J. M. *Synthetic Commun.*, **1988**, 18, 213-220.

¹¹⁴ Battersby A. R. ; Westwood S. W. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, **1987**, 1679-1687.

B. Nouvelle stratégie de synthèse

La nouvelle stratégie de synthèse envisagée est plus convergente et implique le couplage du résidu aminoacide sur une chaîne aminoalkyle avant son introduction sur le composé **92** (Figure 228) :

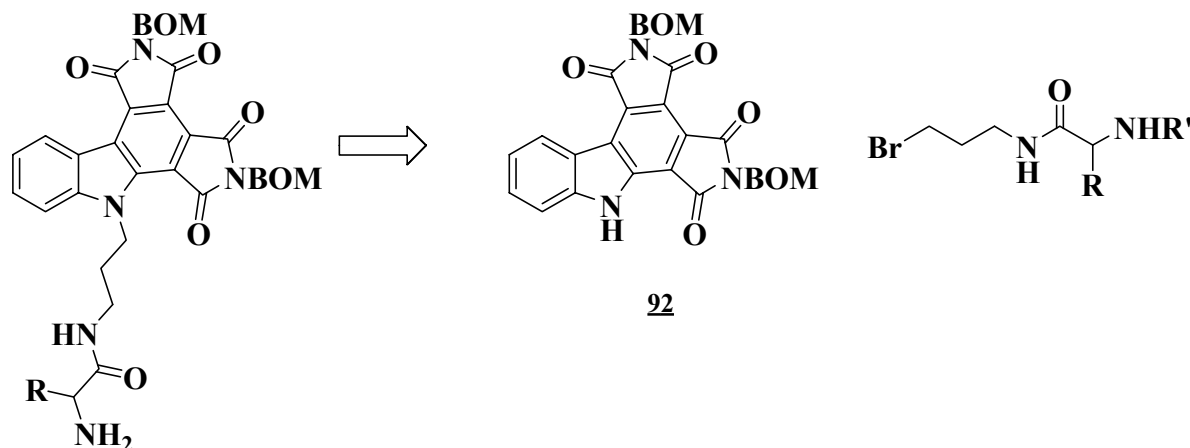


Figure 228 : Nouvelle stratégie de synthèse.

1. Synthèse des électrophiles

Pour la synthèse des composés halogénés à coupler sur le bis-imide **92**, nous nous sommes inspirés des travaux de Mak *et al.*¹¹⁵ décrivant le couplage de la Boc-valine avec la 3-bromopropylamine (Figure 229).

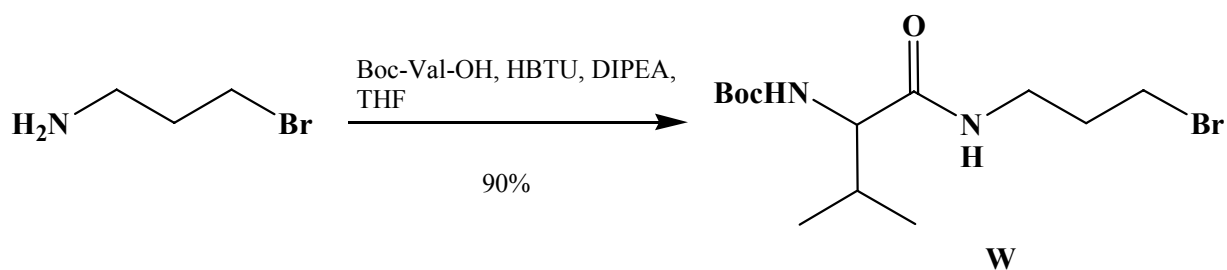


Figure 229 : Couplage entre la Boc-valine et la 3-bromopropylamine.

Nous avons effectué la réaction de couplage avec le HOBt (hydrate de 1-hydroxybenzotriazole) et l'EDCI (chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthyl carbodiimide) réactifs plus classiques et surtout moins coûteux que le HBTU (hexafluorophosphate de *O*-benzotriazol-1-yl-*N,N,N,N*-tétraméthyluronium). Avec la Boc-Valine commerciale et la 3-bromopropylamine, le composé **W** est obtenu avec un rendement de 83%.

¹¹⁵ Mak C.C. ; Brisk A. ; Lerner D. L. ; Elder J. H. ; Morris G. M. ; Olson A. J. ; Wong C.-H. *Bioorg Med. Chem.*, **2003**, 11, 2025-2040.

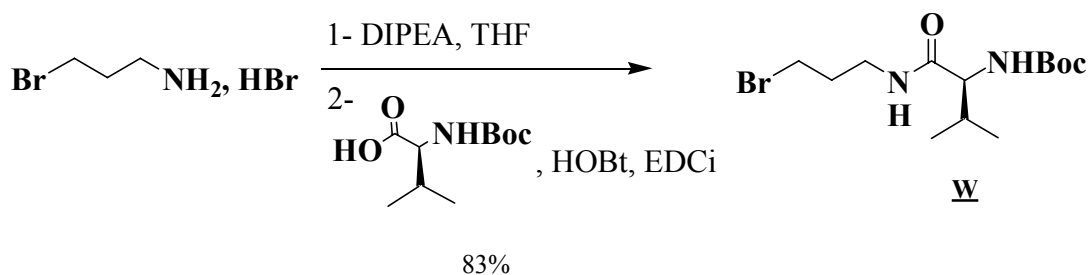


Figure 230 : Synthèse du composé **W**.

Nous avons également effectué le couplage avec la *N*α-*N*ε-di-*t*-Boc-L-lysine, commerciale sous forme de sel de dicyclohexylamine. Après libération du sel dans l'acétate d'éthyle en présence d'acide sulfurique, la lysine protégée est couplée avec la 3-bromopropylamine. Nous avons ainsi obtenu le composé **97** avec un rendement de 82%.

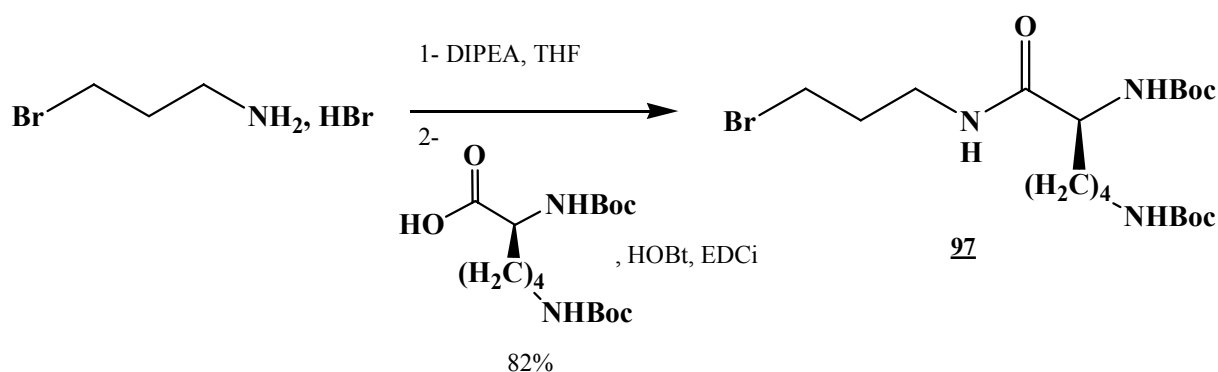


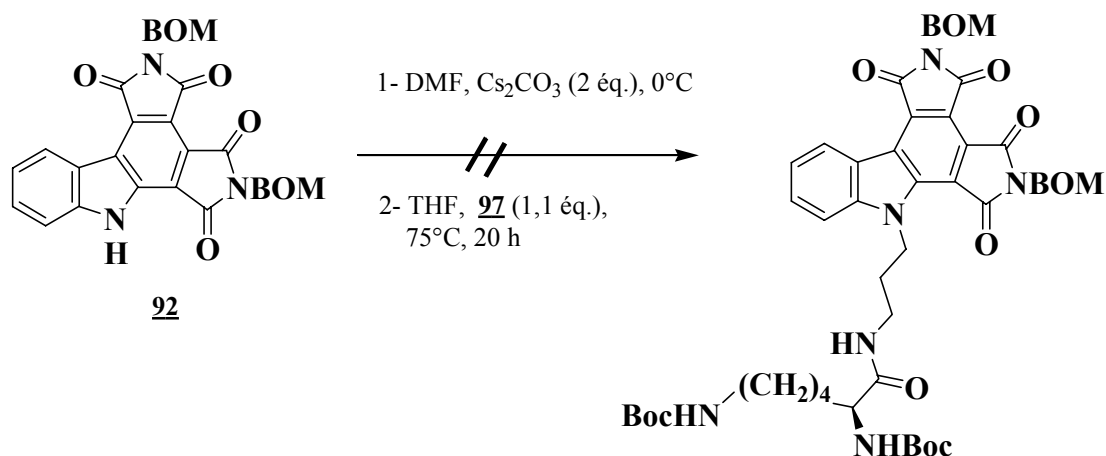
Figure 231 : Couplage de la *N*α-*N*ε-di-*t*-Boc-L-lysine avec la 3-bromopropylamine.

Les réactions de couplage entre les composés **92** et **97** et le composé **W** sont alors envisagées.

2. Couplage sur le composé **92**

Le premier essai de couplage est effectué sur le composé **92** dans le DMF avec le composé **97** en présence de carbonate de césium en nous inspirant des travaux de O'Neill *et al.*⁵⁰ Aucune réaction n'a été observée et le produit de départ est récupéré, ce qui est cohérent avec ce qui avait été observé lors de la tentative de couplage de la bromopropylamine (Figure 222).

⁵⁰ O'Neill D. J. ; Shen L. ; Prouty C. ; Conway B. R. ; Westover L. ; Xu J. Z. ; Zhang H.-C. ; Maryanoff B. E. ; Murray W. V. ; Demarest K. T. ; Kuo G.-H. *Bioorg. Med. Chem.*, **2004**, 12, 3167-3185.

Figure 232 : Essai de couplage avec le composé **97**.

Nous avons également vu que l'alkylation est possible à partir du iodométhane, qui est un électrophile très réactif notamment en raison de la présence de l'iode comme groupement partant. Nous avons donc effectué un essai en présence d'iodure de tétrabutylammonim (1,07 éq.) afin d'effectuer *in situ* un échange d'halogène et d'augmenter la réactivité de notre électrophile et en présence d'1,2 équivalent de carbonate de césium. Le composé **98** a été obtenu avec un rendement de 8%.¹¹⁵ Nous avons pu obtenir un meilleur résultat en utilisant 4,5 équivalents de composé **97** et 10 équivalents de TBAI, nous permettant d'obtenir le composé **98** avec un rendement de 31%.

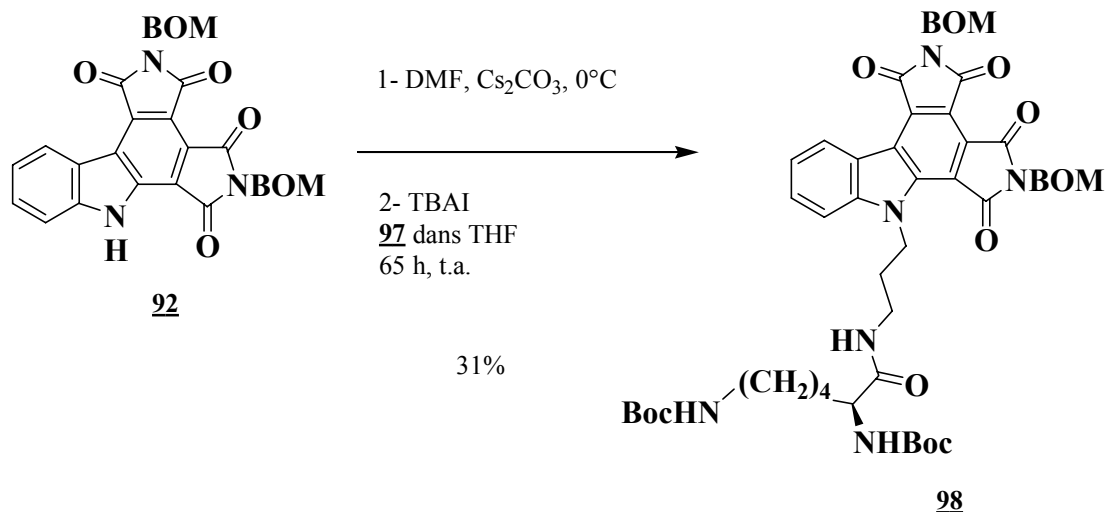
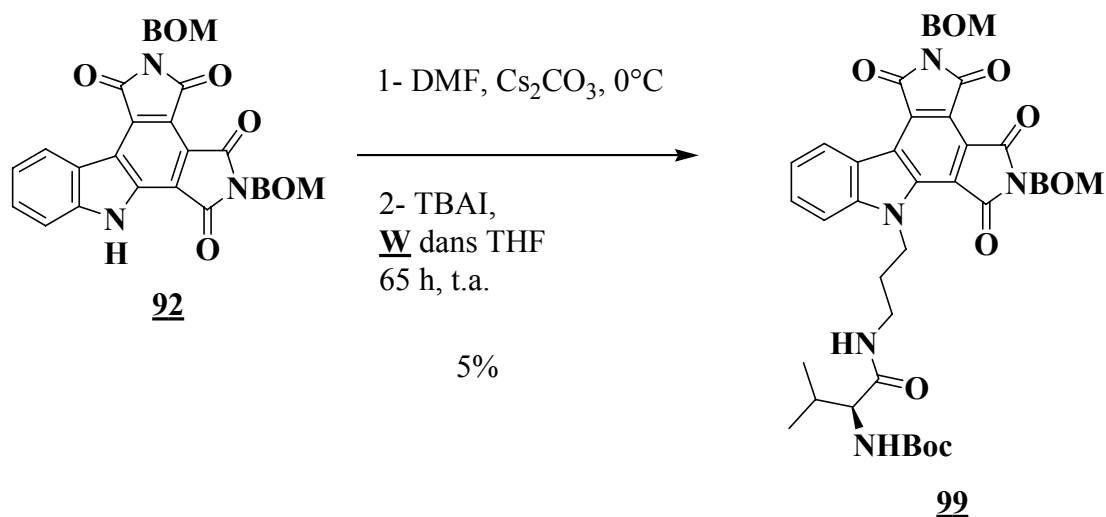


Figure 233 : Essai de couplage en présence de TBAI.

Nous avons également effectué dans ces conditions le couplage du composé **92** avec le composé **W**. Nous avons isolé le composé **99** avec un rendement non-optimisé de 5%.

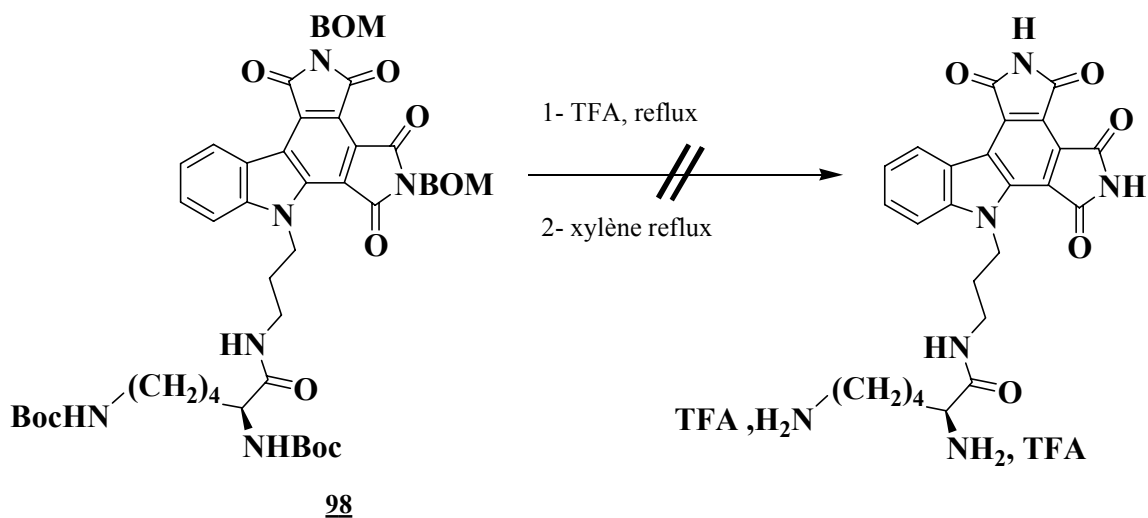
¹¹⁵ Mak C.C. ; Brisk A. ; Lerner D. L. ; Elder J. H. ; Morris G. M. ; Olson A. J. ; Wong C.-H. *Bioorg Med. Chem.*, **2003**, 11, 2025-2040.

Figure 234 : Couplage du composé W sur le composé 92.

Pour les deux produits 98 et 99, nous avons rencontré des problèmes de purification car l'excès en électrophile W ou 97 est nuisible à une bonne séparation par chromatographie sur gel de silice. Par manque de temps nous n'avons pas pu effectuer d'autres essais de couplages.

3. Essai de déprotection du composé 98

Nous avons déjà mis au point une méthode efficace pour régénérer les azotes imidiques protégés par des groupements benzyloxyméthyles par un traitement à l'acide trifluoroacétique à reflux puis thermolyse dans le xylène. Un seul essai de déprotection a été effectué. Nous avons engagé le composé 98 dans ces conditions, ce qui permettrait à la fois d'éliminer les groupements BOM sur les imides mais également les groupements *t*-Boc sur les fonctions amines de l'acide.

Figure 235 : Essai de déprotection du composé 98.

Malheureusement, il semblerait que le composé n'ait pas supporté les conditions réactionnelles car le spectre proton du résidu isolé après évaporation des solvants, est inexploitable et ne nous permet pas de conclure quant à la formation du produit désiré.

Une autre méthode de déprotection devra être envisagée ou l'utilisation d'autres groupements protecteurs.

IV. Couplage direct des aminoacides sur l'azote indolique

Nous avons voulu introduire les acides aminés directement sur l'azote indolique par un couplage peptidique selon le schéma suivant :

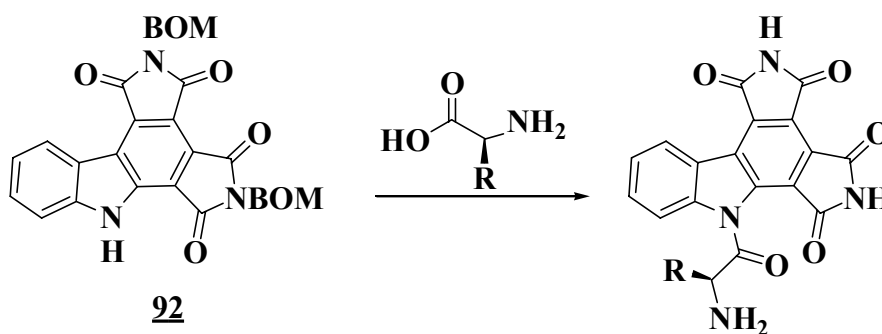


Figure 236 : Nouvelle synthèse envisagée.

Cette synthèse a été effectuée en parallèle avec l'essai décrit précédemment alors que nous n'avions pas encore expérimenté les problèmes de déprotection décrits **Figure 235**. Les synthèses sont envisagées sur le composé **92** afin de bénéficier d'une meilleure solubilité. De plus, la protection des azotes imidiques permet de substituer sélectivement l'azote indolique.

1. Couplage à partir d'un acide carboxylique

a) Couplage sur le composé 92

Dans un premier temps, nous nous sommes inspirés des travaux d'El-Nagger *et al.*¹¹⁶ décrivant plusieurs couplages directs d'aminoacides sur l'azote d'un carbazole. Les aminoacides sont protégés sur les amines par des groupements tosyiles ou phtalyles. La réaction de couplage s'effectue dans le THF, en présence de DCC. Les rendements vont de 55% à 64% selon l'aminoacide de départ.

¹¹⁶ El-Nagger A. M. ; Ahmed F. S. M. ; Abd El-Salam A. M. ; El-Gazzar M. A. *J. Heterocyclic Chem.*, **1982**, *19*, 1025-1028.

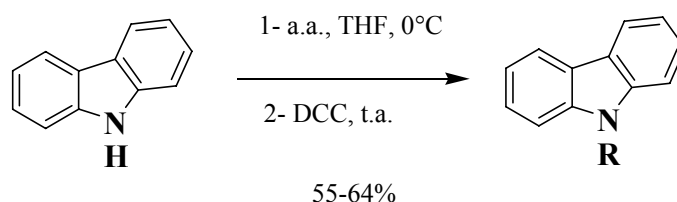


Figure 237 : Accès aux aminoacylcarbazoles par El-Naggar *et al.*

Nous avons alors décidé d'appliquer cette méthode au composé **92** avec la *N*α-*N*ε-di-*t*-Boc-L-lysine, sachant qu'El-Naggar *et al.* ne décrivent pas de couplage à partir de la lysine.

Dans le THF nous avons rencontré des problèmes de solubilité, et aucune réaction n'a été observée. Pour pallier ce problème, un autre essai a été effectué dans le DMF mais il s'est également révélé infructueux. En raison de ces problèmes de solubilité, la gamme de concentration utilisée dans les travaux d'El Naggar n'a pas pu être atteinte.

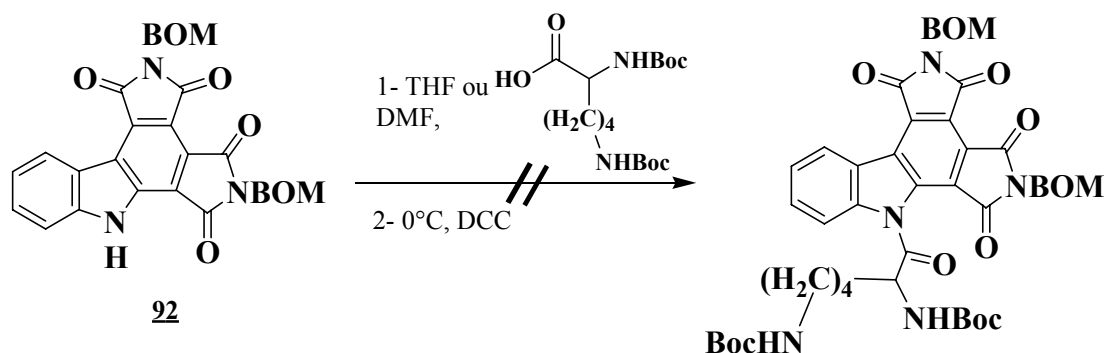


Figure 238 : Premier essai de couplage selon El-Naggar *et al.* dans le THF.

El-Naggar *et al.* mentionnent que le couplage peut également s'effectuer dans un mélange THF/triéthylamine. Nous avons alors ajouté 1 équivalent de triéthylamine dans le milieu réactionnel. De nouveau, seul le composé de départ a été isolé.

b) Couplage sur le carbazole

Afin de vérifier les conditions expérimentales décrites par El-Naggar *et al.*, nous avons effectué plusieurs essais à partir du carbazole. Avec la *N*α-*N*ε-di-*t*-Boc-L-lysine, aucun problème de solubilité n'a été observé mais nous n'avons observé aucune réaction.

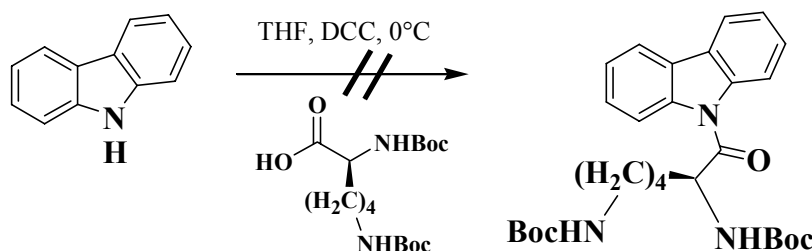


Figure 239 : Synthèse test sur le carbazole avec la *N*α-*N*ε-di-*t*-Boc-L-lysine.

Nous avons donc effectué exactement les couplages décrits avec la glycine protégée par le groupement phtalyle et aussi avec la glycine protégée par un groupement Boc. Aucun de ces essais n'a conduit au produit de couplage. Des modifications des conditions réactionnelles ont également été apportées mais aucune réaction n'a été observée. L'azote du carbazole n'est sans doute pas assez nucléophile pour permettre la réaction de couplage. Nous avons donc abandonné la méthode.

2. Couplage sur le composé **92** à partir d'un chlorure d'acide

La réaction de couplage a ensuite été essayée en utilisant un chlorure d'acide plus réactif. On trouve plusieurs exemples de formation de chlorure d'acide à partir d'aminoacides protégés par un groupement Boc.¹¹⁷

Nous avons effectué un essai dans les conditions décrites par Rasheed *et al.* dans le benzène en présence de chlorure de thionyle à reflux. Le produit isolé est la glycine.

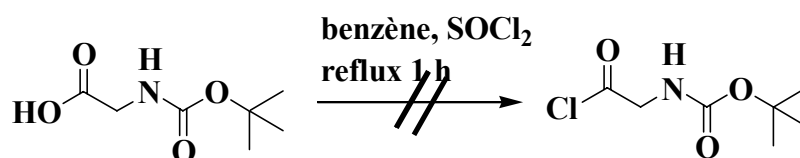


Figure 240 : Accès au chlorure d'acide par la méthode de Rasheed *et al.*

Nous avons alors utilisé la méthode décrite par Clemence *et al.*¹¹⁸, permettant également d'accéder à des chlorures d'aminoacides contenant un groupement *t*-Boc. Le chlorure d'acide est généré à 0 °C dans le dichlorométhane par ajout successif de *N*-méthylmorpholine et de chloroformate d'isobutyle.

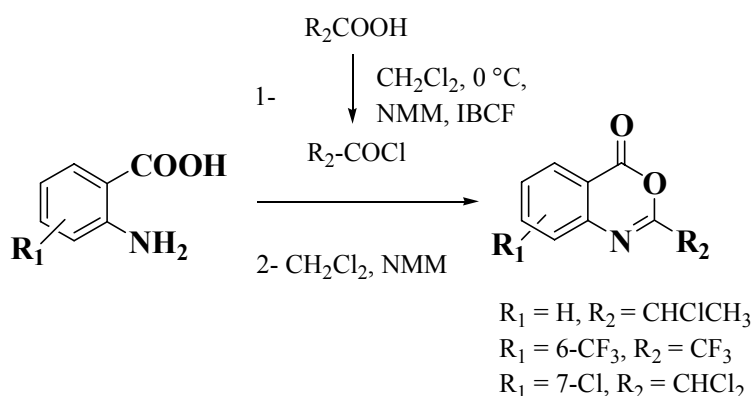


Figure 241 : Synthèse de Clemence *et al.*

¹¹⁷ Rasheed A. ; Ravichandran V. ; Kohli D. V. *Pharmazie*, **1999**, 54, 857-858.

¹¹⁸ Clemence F. ; Le Martret O. ; Delevallee F. ; Benzoni J. ; Jouanen A. ; Jouquey S. ; Mouren M. ; Deraedt R. *J. Med. Chem.*, **1988**, 31, 1453-1462.

Dans un premier temps, nous avons tenté d'effectuer la synthèse du chlorure d'acide dans ces conditions et nous avons essayé de l'isoler pour ensuite l'engager dans la réaction de couplage sur le composé **92**. Après évaporation, nous avons obtenu un résidu dont le spectre de RMN ^1H est inexploitable.

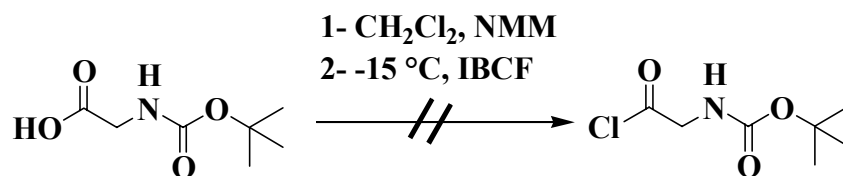


Figure 242 : Accès au chlorure d'acide par la méthode de Clemence *et al.*

Les chlorures d'acides étant peu stables, nous avons décidé d'engager le chlorure d'acide en réaction sans l'isoler préalablement. Nous avons alors préparé séparément l'anion du composé **92** en présence de NaH et le chlorure d'acide dans le THF en présence de *N*-méthylmorpholine et d'IBCF à -15 °C. Les deux milieux réactionnels sont ensuite rassemblés. Malheureusement, nous n'avons récupéré que le produit de départ.

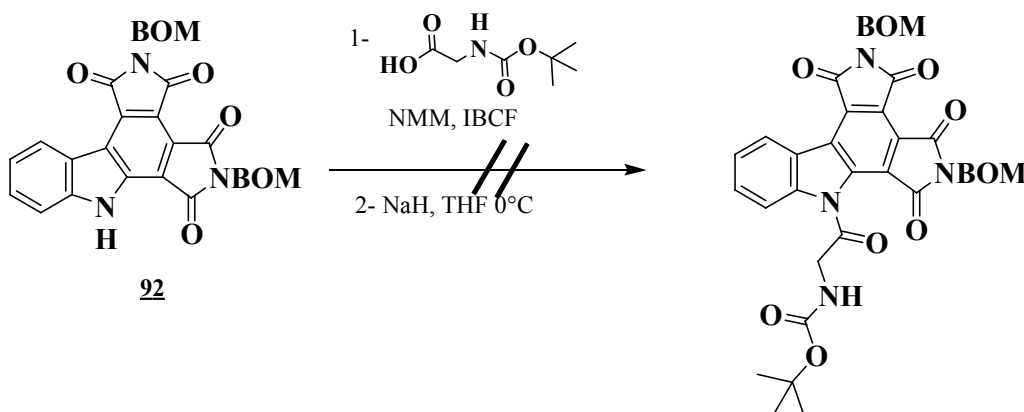


Figure 243 : Formation du chlorure d'acide et couplage.

Au vu de tous ces essais infructueux, nous avons voulu vérifier si la formation d'une liaison *N*-acétyle sur l'indole était possible

3. Test avec le chlorure d'acétyle

Nous avons effectué une réaction test avec le chlorure d'acétyle.

Le composé **92** est dissous dans un mélange THF/DMF puis déprotoné en présence de NaH. Le chlorure d'acétyle est ensuite ajouté. Après hydrolyse, extraction et purification, le composé **100** est isolé avec un rendement non-optimisé de 12%.

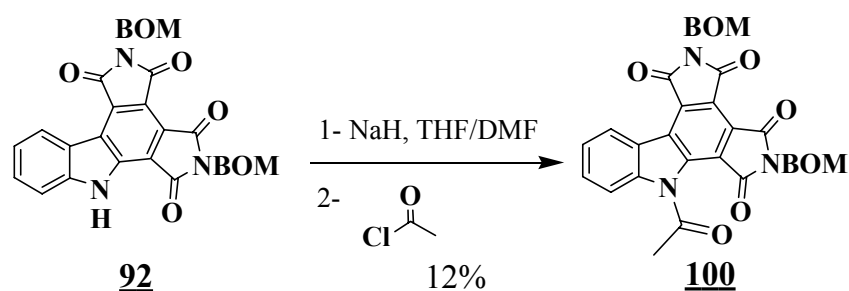


Figure 244 : Acétylation du composé 92.

Afin d'optimiser le rendement, plusieurs variations des conditions réactionnelles ont été apportées :

- le chlorure d'acétyle utilisé a été fraîchement distillé,
- dilution du milieu réactionnel pour avoir une meilleure solubilité du produit de départ pour éviter sa précipitation,
- ajout d'une solution de chlorure d'acétyle (solution dans le DMF ou dans le THF),
- excès de base,
- ajout d'un excès de chlorure d'acétyle.

Aucune des modifications effectuées n'a conduit à un meilleur rendement.

Nous avons donc abandonné cette voie de synthèse de couplage direct des aminoacides sur l'azote indolique.

Chapitre III : SYNTHÈSE DE L'ISOSTÈRE AZAINDOLE DU COMPOSE I

I. Introduction

Les azaindoles sont des bio-isostères des indoles. Ils ont un grand potentiel biologique ce qui leur confère un grand intérêt en chimie thérapeutique. Seul le 7-azaindole est commercial mais il existe cependant trois autres isomères : les 4- 5- et 6-azaindoles.

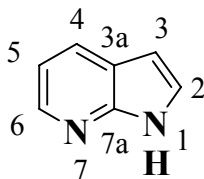


Figure 245 : Structure du 7-azaindole.

La présence d'un atome d'azote supplémentaire peut favoriser les interactions dans le site actif de l'enzyme et donc modifier le profil pharmacologique des composés par modification de la distribution électronique du squelette aromatique et/ou par la présence du doublet libre supplémentaire qui peut induire de nouvelles liaisons hydrogène.

Plusieurs synthèses d'analogues de la rébeccamycine et de la staurosporine comprenant un ou deux motifs azaindole ont été effectuées par Christelle Marminon.^{119,120} Ces composés ont montré une meilleure cytotoxicité qu'en série indolique.

Dans la série des analogues de la granulatinamide, Bernadette Hugon¹²¹ a également synthétisé plusieurs analogues comportant un motif azaindole, certains possédant en plus une partie osidique (**Figure 246**).

¹¹⁹ Marminon C. ; Pierré A. ; Pfeiffer B. ; Pérez V. ; Léonce S. ; Renard P. ; Prudhomme M. *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, *11*, 679-687.

¹²⁰ Marminon C. ; Pierré A. ; Pfeiffer B. ; Pérez V. ; Léonce S. ; Joubert A. ; Bailly C. ; Renard P. ; Hickman J. ; Prudhomme M. *J. Med. Chem.*, **2003**, *46*, 609-622.

¹²¹ Hugon B. ; Pfeiffer B. ; Renard P. ; Prudhomme M. *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 4607-4611.

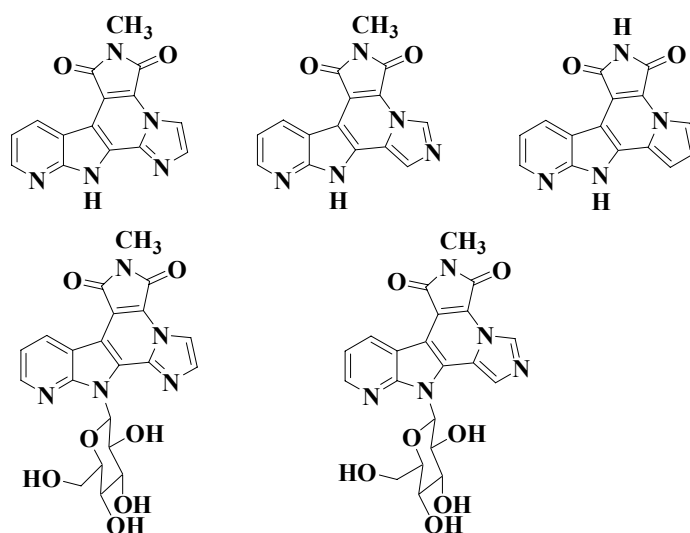


Figure 246 : Analogues de la granulatinimide synthétisés en série 7-azaindole par Bernadette Hugon.

Samir Messaoudi⁷⁰ a également effectué la synthèse d'analogues de la granulatinimide en série bis-imide comportant un sucre sur l'azote du cycle B (Figure 247).

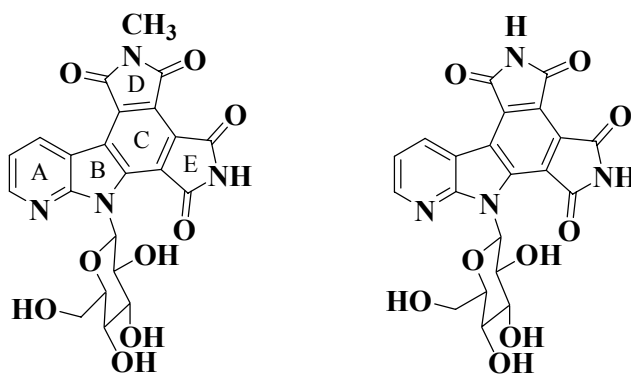


Figure 247 : Composés synthétisés par Samir Messaoudi en série bis-imide.

La suite du travail exposé est consacrée à la synthèse de l'isostère 7-azaindole du composé **1** de référence.

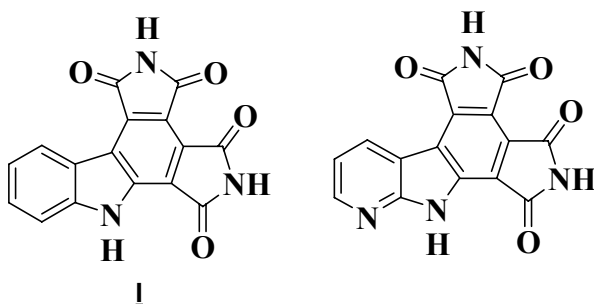


Figure 248 : Composé **1** et son analogue en série 7-azaindole.

⁷⁰ Hénon H. ; Messaoudi S. ; Hugon B. ; Anizon F. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *Tetrahedron*, **2005**, 61, 5599-5614.

I. Synthèse de l'analogue aza du composé **1**

1. Choix de la voie de synthèse

Une voie de synthèse identique à celle décrite pour la préparation du composé **1** ne peut pas être envisagée. En effet, comme l'a montré Fabrice Anizon⁷⁰, la réaction de Michaël entre le 7-azaindole et le maléimide dans les conditions classiques (acide acétique à reflux) ne s'effectue pas de manière à obtenir la substitution de l'azaindole en position 3. Le produit **101**, substitué en position 1 de l'azaindole est obtenu avec un rendement de 10%.

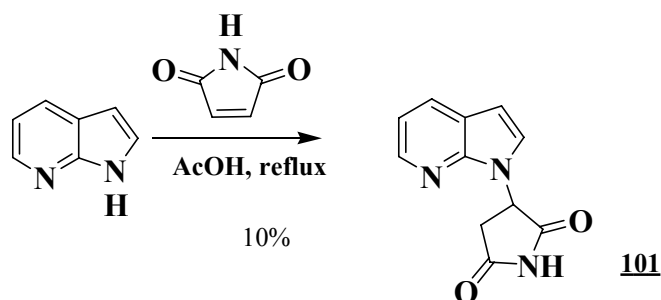


Figure 249 : Réaction de Michaël à partir du 7-azaindole.

La réaction de Grignard entre un indole et un dérivé du dibromomaléimide permet également d'accéder à des indolylmaléimides. La protection de l'azote imidique est nécessaire. En effet, Samir Messaoudi a effectué une réaction test avec le dibromomaléimide. L'attaque nucléophile du Grignard s'effectue non pas à partir du carbone C₃ ou de l'azote N₁ mais à partir de l'azote N₇, conduisant à la formation du composé **XIII** du fait de l'existence de formes tautomères du 7-azaindole.

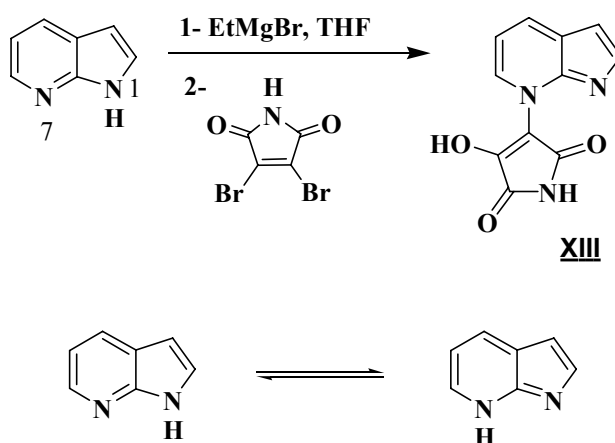


Figure 250 : Réaction du Grignard sans protection du dibromomaléimide et formes tautomères du 7-azaindole.

⁷⁰ Hénon H. ; Messaoudi S. ; Hugon B. ; Anizon F. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *Tetrahedron*, **2005**, 61, 5599-5614.

Cette réaction de Grignard a été employée par Samir Messaoudi pour préparer des analogues azabis-imides comportant une partie sucre, selon la voie de synthèse indiquée sur la **Figure 251**.⁷⁰

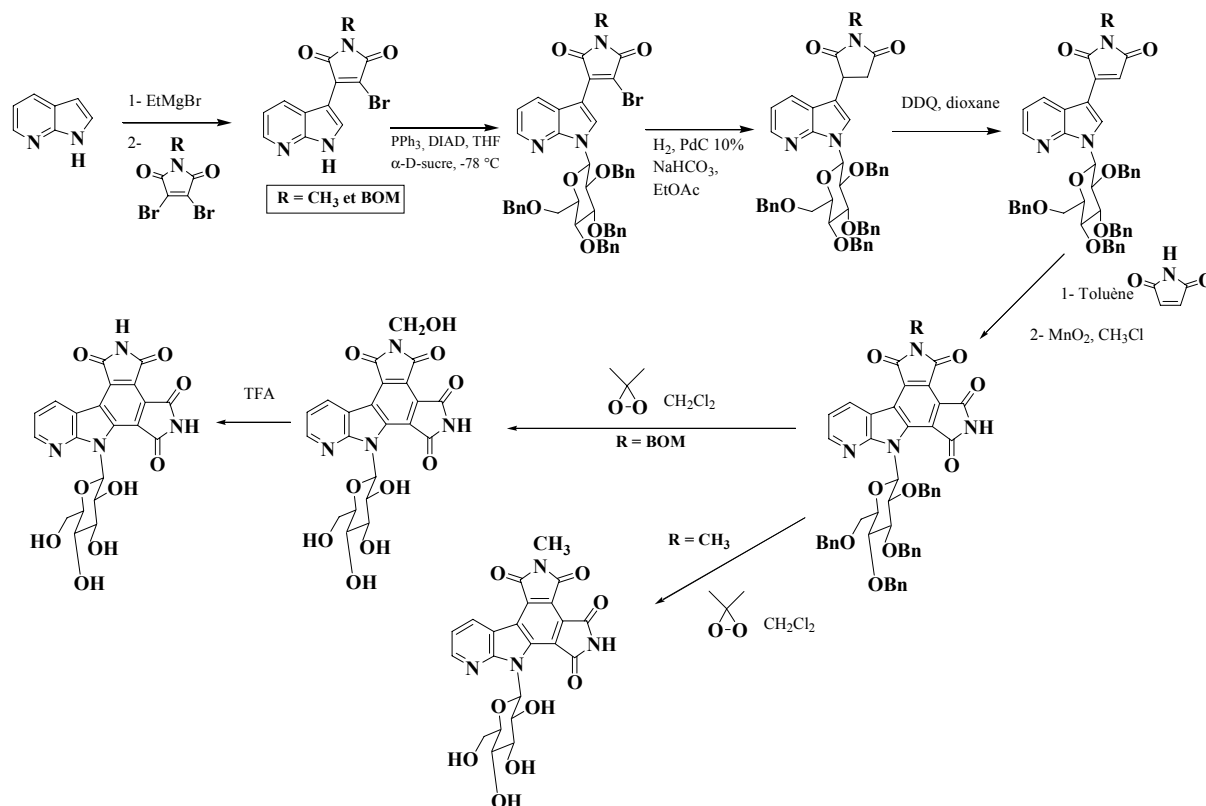


Figure 251 : Synthèse des azabismaléimides comportant une partie osidique.

Nous avons choisi de suivre une voie de synthèse comparable passant par un bromoindolylmaleimide.

2. Synthèse en série *N*-méthylée

Fabrice Anizon⁷⁰ a effectué la synthèse du composé **104** (Figure 253). L'accès au composé **XIV** a été décrit par Christelle Marminon au cours de sa thèse (Figure 252).

⁷⁰ Hénon H. ; Messaoudi S. ; Hugon B. ; Anizon F. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *Tetrahedron*, **2005**, *61*, 5599-5614.

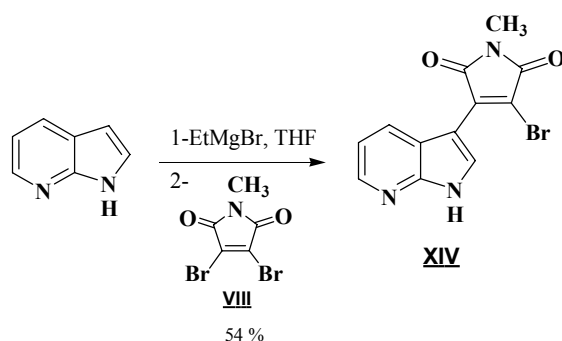


Figure 252 : Synthèse du composé **XIV** décrit par Christelle Marminon.

Le composé **XIV** a été hydrogéné en présence de palladium sur charbon à pression atmosphérique. Après filtration, évaporation et purification, le composé **102** est obtenu avec un rendement de 90%. L'oxydation par le DDQ dans le dioxane permet d'accéder facilement composé **103** avec un rendement de 94%. La réaction de Diels-Alder suivie de l'aromatisation en présence de DDQ dans le dioxane à reflux, a permis d'isoler le composé **104** avec un rendement de 83%.

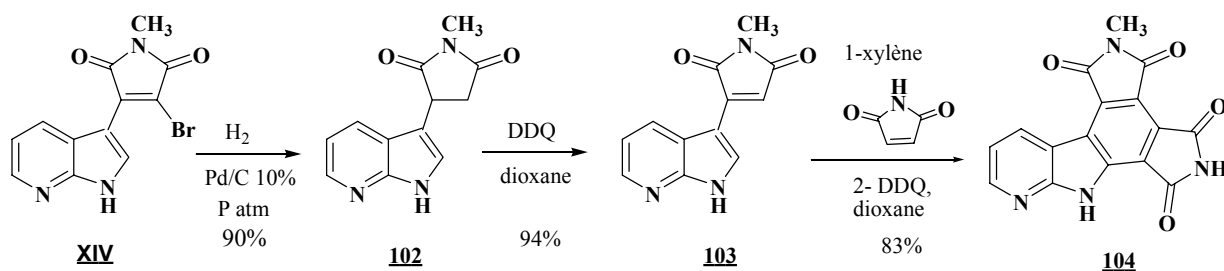


Figure 253 : Synthèse en série méthylé.

3. Synthèse en série NH

Nous avons envisagé l'élimination du groupement méthyle pour accéder au composé bis-imide non-substitué selon la voie indiquée **Figure 254**.

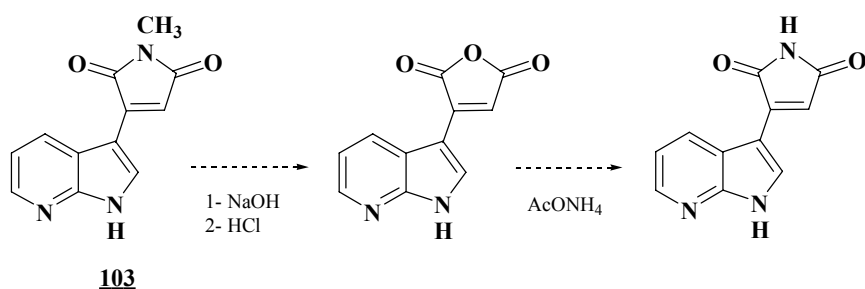
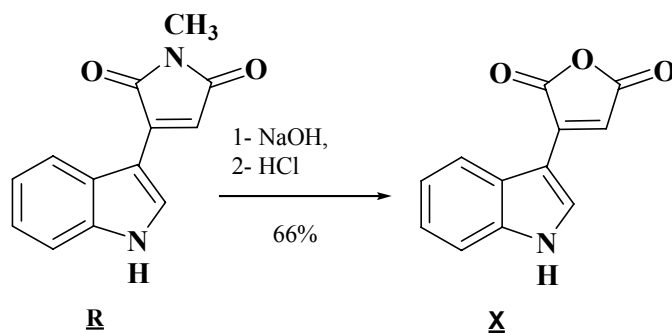
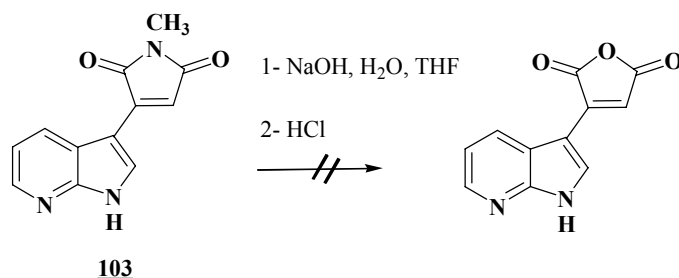


Figure 254 : Voie de synthèse proposée.

En effet, en série indole, la synthèse du composé **X** a déjà été effectuée au laboratoire ce qui nous a incités à appliquer cette voie de synthèse.

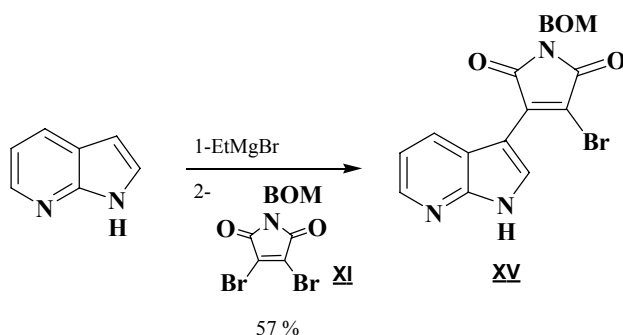
Figure 255 : Synthèse de l'anhydride **X**.

Le composé **103** est donc placé dans les mêmes conditions que pour la synthèse du composé **X**. Malheureusement, nous n'avons pas obtenu le composé désiré. Il est probable qu'après ouverture de l'imide suite à l'attaque de l'anion hydroxyle, la cyclisation en anhydride en milieu acide ne s'effectue pas. Les carbones des carbonyles sont rendus plus électrophiles par la présence de l'azote pyridinique ce qui pourrait favoriser la forme ouverte.

Figure 256 : Essai de synthèse de l'anhydride à partir du composé **103**.

Nous avons donc décidé de protéger l'azote imidique par un groupement BOM.

Pour cela nous sommes partis du composé **XV**, dont la synthèse a été mise au point par Christelle Marminon au cours de sa thèse.

Figure 257 : Préparation du composé **XV**.

Nous avons ensuite envisagé l'élimination du groupement benzyloxyméthyle en même temps que l'hydrogénolyse du brome avant de poursuivre la synthèse. Pour cela, différents essais ont été réalisés.

Nous nous sommes alors inspirés des travaux de Zembower *et al.*¹²² qui décrivent l'élimination d'un groupement BOM par hydrogénolyse à 3 atmosphères dans l'acide acétique.

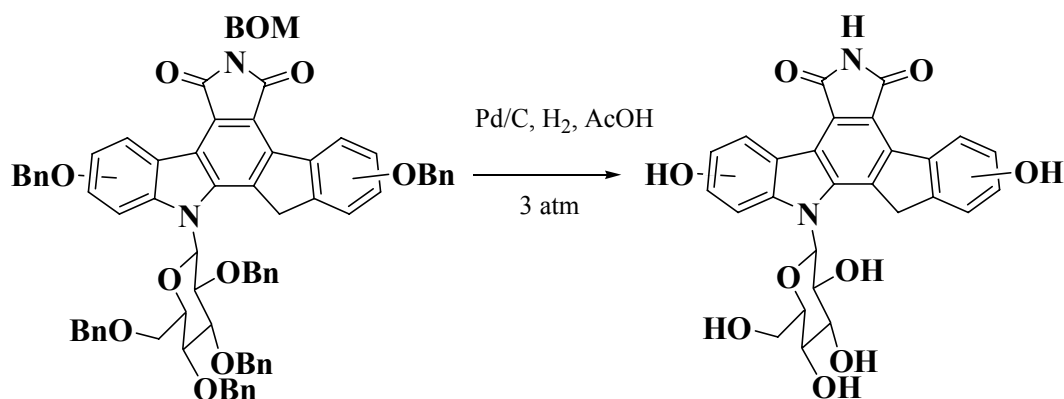


Figure 258 : Hydrogénolyse par Zembower *et al.*

A pression atmosphérique, seul le composé de départ a été isolé. Par contre, à 3 atmosphères le composé **105** est isolé avec un rendement de 35% au bout de 24 heures alors qu'il reste encore du produit de départ. L'hydrogénolyse du brome et l'hydrogénation de la double liaison se sont bien produites mais l'azote imidique n'est pas déprotégé.

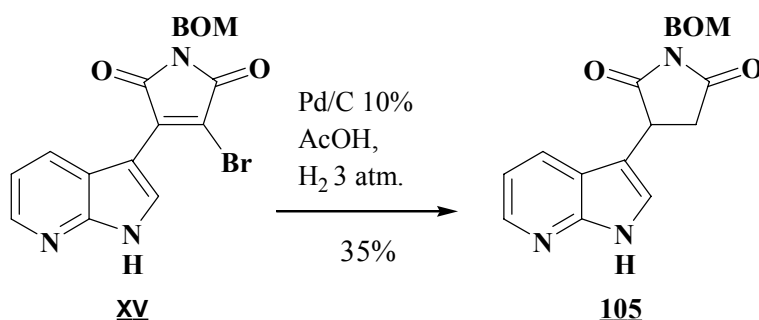


Figure 259 : Hydrogénolyse sous pression d'hydrogène.

Une autre méthode a alors été envisagée : l'utilisation du catalyseur de Pearlman (voir plus haut pour la préparation du composé **86** Figure 207). Le composé **XV** est hydrogéné dans un mélange acétate d'éthyle/méthanol à pression atmosphérique en présence d'hydroxyde de palladium à 20%. Le composé **105** est isolé avec un rendement de 50% et il ne reste plus de produit de départ.

¹²² Zembower D. E. ; Zhang H. ; Lineswala J. P. ; Kuffel M. J. ; Aytes S. A. ; Ames M. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1999**, 9, 145-150.

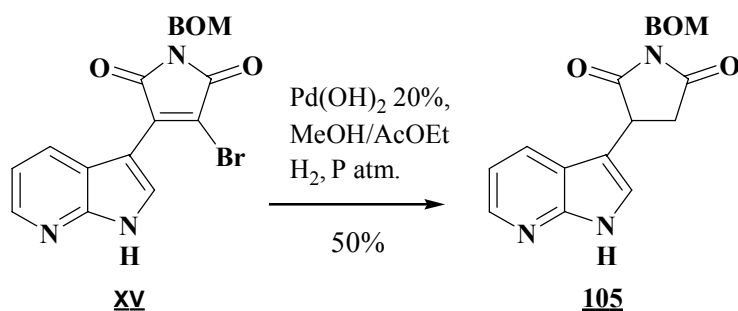


Figure 260 : Hydrogénolyse du composé **XV** avec le catalyseur de Pearlman.

Nous avons finalement utilisé les conditions mises au point par Samir Messaoudi pour l'accès aux analogues glycosylés (Figure 251). Le composé **105** est isolé avec un rendement de 68%.

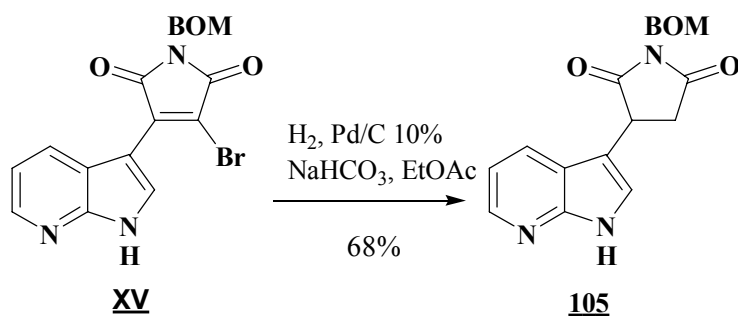


Figure 261 : Hydrogénation du composé **XV**.

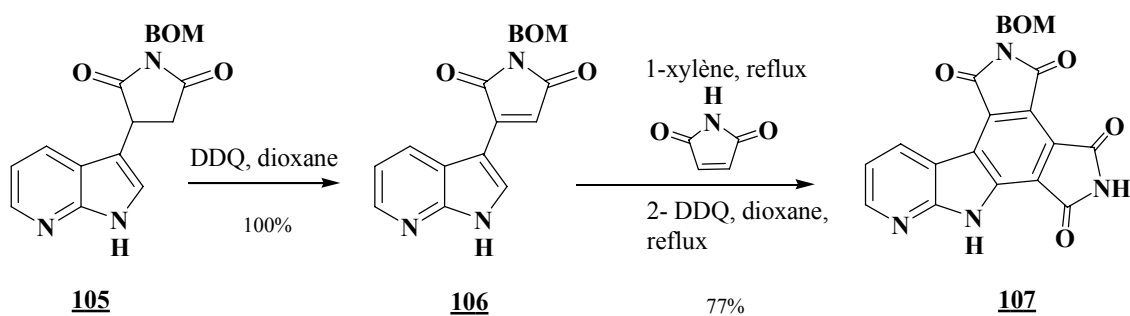
Nous constatons que le BOM n'a pas pu être éliminé à ce stade de la synthèse. Il est probable que la présence de l'atome d'azote basique du cycle pyridine soit à l'origine de ce manque de réactivité. En effet, il a déjà été montré que la présence d'une base azotée pouvait inhiber l'hydrogénolyse du groupement benzyloxy (Figures 135 et 197).^{80,81}

Nous avons décidé de poursuivre la synthèse sur le composé protégé en espérant que le groupement benzyloxyméthyle pourra être facilement éliminé en fin de synthèse.

La synthèse est alors poursuivie. Le composé **105** est oxydé au DDQ dans le dioxane à température ambiante conduisant au composé **106** avec un rendement quantitatif. La réaction de Diels-Alder suivie de l'aromatisation au DDQ dans le dioxane à reflux conduit au composé **107** avec un rendement de 77% pour les deux étapes.

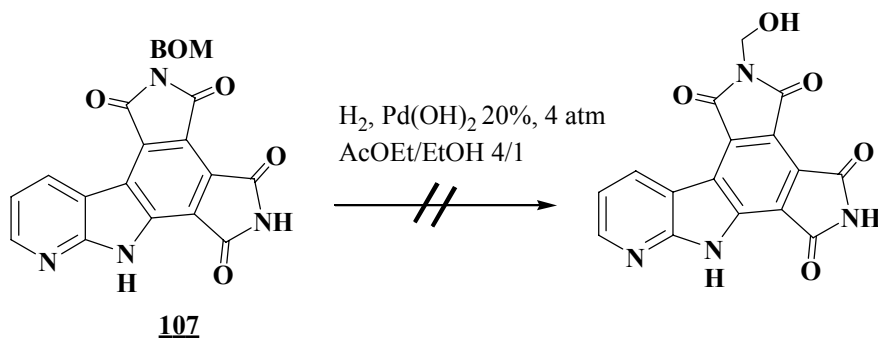
⁸⁰ Sajiki H. ; Kuno H. ; Hirota K. *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, 7127-7130.

⁸¹ Sajiki H. ; Hirota K. *Tetrahedron*, **1998**, 54, 13981-13996.

Figure 262 : Synthèse du composé **107**.

Il ne nous restait plus qu'à régénérer la fonction imide de l'hétérocycle supérieur. Or le composé **106** est particulièrement insoluble même avec le groupement BOM qui aurait pu apporter un gain de solubilité.

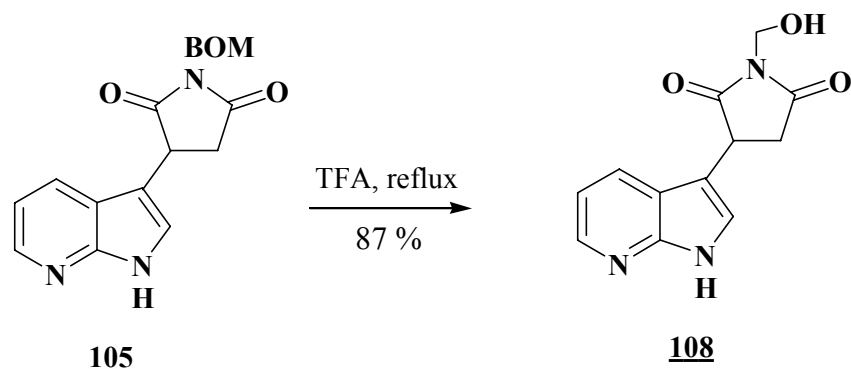
Nous avons quand même voulu tenter une réaction d'hydrogénolyse selon Gallant *et al.*⁹⁴ avec le catalyseur de Pearlman, sous pression. Le composé **107** est hydrogéné sous 4 atmosphères, en présence de Pd(OH)₂ 20%, dans un mélange acétate d'éthyle/méthanol. Malheureusement, le composé est complètement insoluble et aucun produit de réaction n'a pu être isolé.

Figure 263 : Essai d'hydrogénolyse du composé **107**.

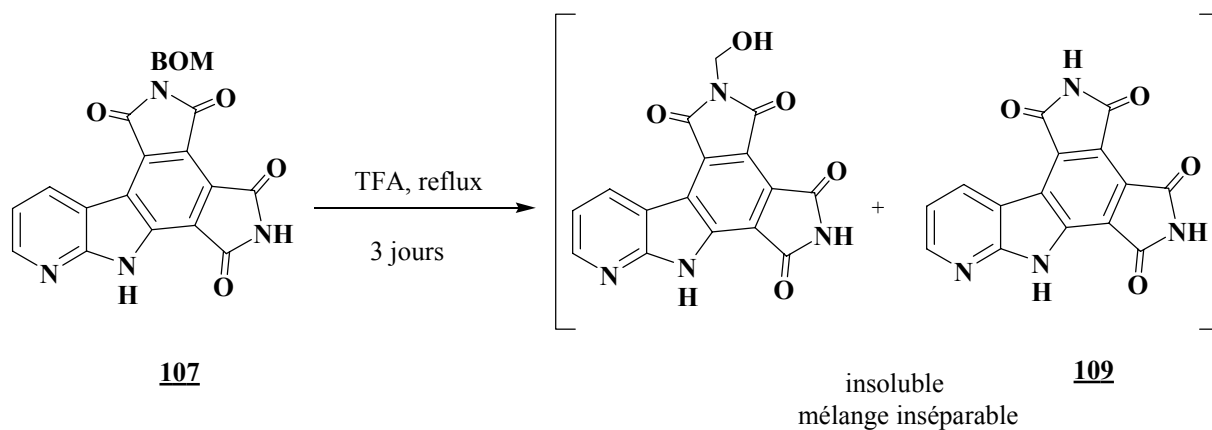
Nous avons alors tenté la méthode de DeFrees *et al.*⁸² dans l'acide trifluoroacétique que nous avons déjà appliquée plusieurs fois pour éliminer des groupements benzyles et BOM (Figures **139** et **227**). Nous avons tout d'abord effectué une synthèse test sur l'intermédiaire **105**. Celui-ci est dissous dans l'acide trifluoroacétique et chauffé à reflux pendant 32 heures. Après retour à température ambiante et co-évaporation au toluène un composé est isolé. Il s'agit du composé attendu **108**.

⁹⁴ Gallant M. ; Link J. T. ; Danishefsky S. J. *J. Org. Chem.*, **1993**, 58, 343-349.

⁸² DeFrees S. A. ; Reddy K. S. ; Cassady J. M. *Synthetic Commun.*, **1988**, 18, 213-220.

Figure 264 : Essai de débenzylation au TFA sur le composé **105**.

Nous avons alors tenté cette méthode sur le composé **107**. En effet, nous avons observé que le composé **107** est soluble dans le TFA. Celui-ci est donc dissous puis chauffé à reflux dans le TFA. La réaction est lente et au bout de 3 jours le mélange isolé, identifié par RMN ^1H , est constitué du composé *N*-hydroxyméthyle intermédiaire et du produit final attendu **109**.

Figure 265 : Débenzylation au TFA sur le composé **106**.

La réaction de thermolyse¹¹⁴ dans le xylène est alors effectuée sur le mélange. Le composé **109** est isolé après 7 jours à reflux dans le xylène avec un rendement de 63%.

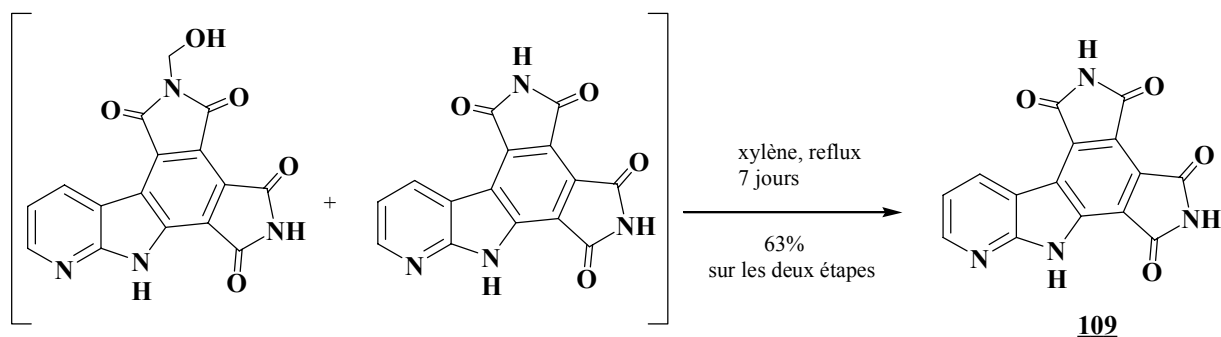


Figure 266 : Thermolyse sur le mélange.

¹¹⁴ Battersby A. R. ; Westwood S. W. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, **1987**, 1679-1687.

Conclusion

Au cours de ce travail de recherche, nous avons effectué la synthèse de nombreux analogues du bis-imide **1** pouvant permettre d'élargir l'étude de relations structure-activité débutée au laboratoire par Bernadette Hugon en série indolique et Samir Messaoudi en série azaindolique glycosylée. Ces composés sont conçus pour être des inhibiteurs du point de contrôle en G2 du cycle cellulaire.

- Nous avons développé dans une première partie des composés dont les imides ont été substitués. Puis nous avons continué en série imide non-substituée avec la synthèse de composés substitués sur le cycle A soit en partant d'indole commerciaux différemment substitués soit par couplage pallado-catalysé à partir de l'iododindole.

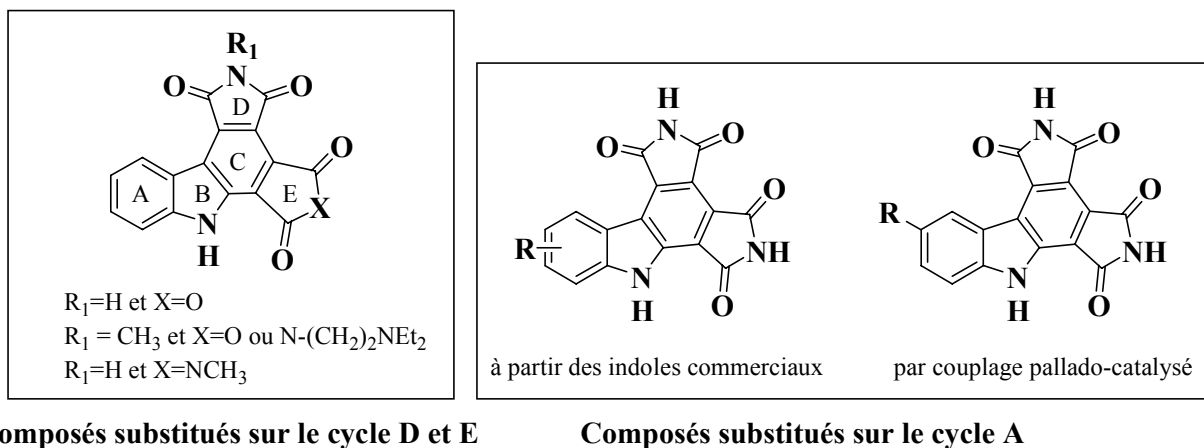


Figure 267 : Composés de type bis-imides.

- Dans une deuxième partie, nous avons également introduit sur le cycle B des groupements solubilisants.
- soit de type osidique (glucose).
 - soit une chaîne comportant un résidu aminoacide.

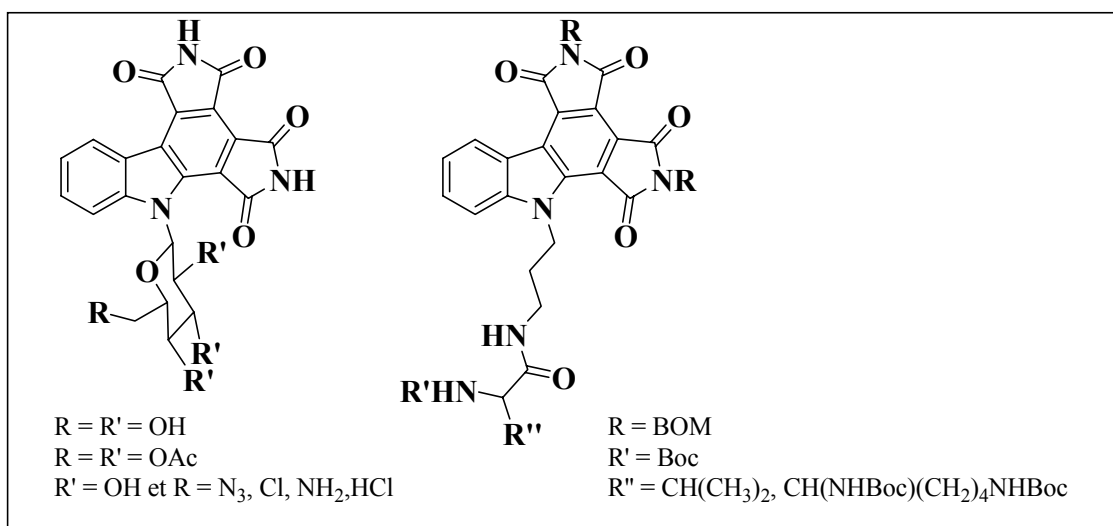


Figure 268 : Composés comportant un groupement solubilisant.

- Enfin, dans une troisième partie, nous avons développé la synthèse d'analogues du composé **1** en série azaindole :

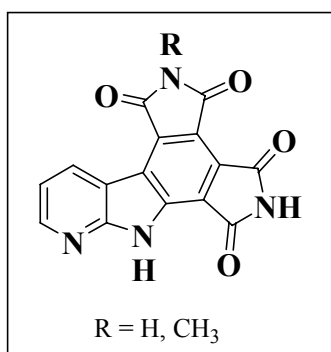


Figure 269 : Analogues en série azaindole.

Les activités biologiques de ces composés seront présentées dans le chapitre suivant.

TESTS D'ACTIVITE BIOLOGIQUE

Introduction

L'objectif du travail effectué est la synthèse d'inhibiteurs du point de contrôle en G2, analogues de la granulatimide et de l'isogranulatimide. Ces composés permettraient d'abolir le point de contrôle en G2 des cellules cancéreuses et de favoriser ainsi l'action d'agents endommageant l'ADN. L'objectif n'est pas d'obtenir des composés cytotoxiques car cela indiquerait une action sur d'autres cibles que celles intervenant au niveau du point de contrôle en G2.

Les tests biologiques qui ont été effectués sur les analogues synthétisés sont les suivants :

- tests d'activités antiproliférative sur différentes lignées cellulaires cancéreuses murines et humaines,
- effet sur le cycle cellulaire de cellules leucémiques murines L1210.

I. Principes des différents tests

A. Activité antiproliférative

Les activités antiprolifératives ont été évaluées *in vitro* sur plusieurs lignées de cellules tumorales humaines (carcinomes du côlon HT29 et HCT116, carcinome de la prostate DU145, carcinome pulmonaire non à petites cellules A549) et sur une lignée de cellules de leucémie murines L1210.

Les résultats sont exprimés en IC₅₀ (en μM), concentration de drogue inhibant de 50% la prolifération des cellules.

B. Effet sur le cycle cellulaire

L'étude de l'effet sur le cycle cellulaire consiste en la détermination du pourcentage de cellules retrouvées dans les différentes phases du cycle G1, S, G2 et M. Les résultats sont comparés à un témoin pour lequel le pourcentage de cellules retrouvées dans les différentes phases du cycle en l'absence de drogue est déterminé (**Tableau 27**).

	G1	S	G2+M
Témoin	44%	28%	24%

Tableau 27 : Pourcentage des cellules dans les différentes phases du cycle cellulaire en l'absence de drogue.

II. Activités des analogues du composé **I**

A. Activités des composés de référence

Au cours de cette étude, nous nous sommes intéressés à la synthèse d'analogues de la granulaticide et de l'isogranulaticide, inhibiteurs du point de contrôle en G2. Afin de pouvoir comparer les activités des composés synthétisés avec les composés naturels et avec le composé **I**, notre chef de file dans cette série, nous avons reporté dans le tableau ci-dessous (**Tableau 28**) les résultats des tests biologiques déjà effectués.

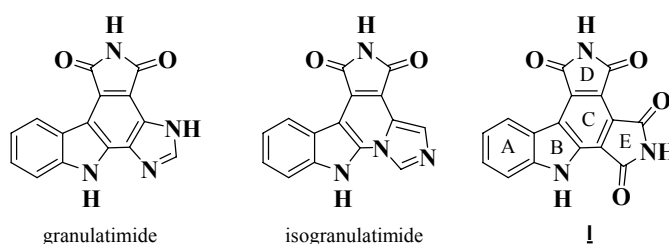


Figure 270 : Structures des composés de référence : la granulaticide, l'isogranulaticide et le composé **I.**

Composés	L1210	DU145	HCT116	HT29	A549	Effet sur le cycle L1210
Granulaticide	2,8	2,8	6,1	5,7	11,4	65% G1 (20µM)
Isogranulaticide	10	13,1	13	13,7	18,1	69% G2+M (50µM)
I	32,7	53,6	nt	9,7	65,7	nt

Tableau 28 : Activités antiprolifératives *in vitro* sur lignées cellulaires cancéreuses (IC₅₀ en µM) et effet sur le cycle cellulaire des cellules L1210.
nt : non testé.

Le composé **I** est moins cytotoxique que la granulaticide et l'isogranulaticide

B. Les composés dont les cycles D et E sont modifiés

Les activités antiprolifératives de cette série de composés ont été évaluées sur quatre lignées cellulaires cancéreuses (**Tableau 29**). Les résultats de ces tests de cytotoxicité sont comparés avec les activités antiprolifératives des produits **II**, **III**, **IV** et **V** synthétisés par Bernadette Hugon au cours de sa thèse.

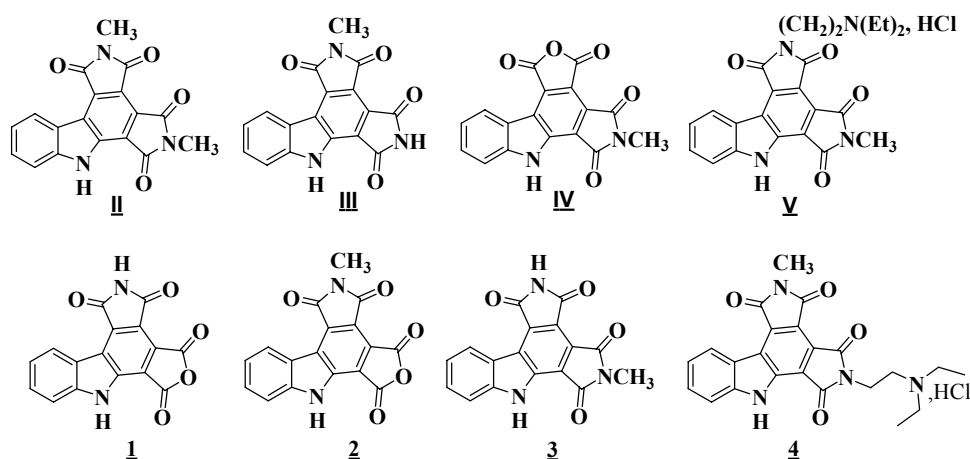


Figure 271 : Structures des composés dont les cycles D et E ont été modifiés.

Composés	L1210	DU145	A549	HT29
<u>I</u>	32,7	53,6	65,7	9,7
<u>II</u>	6,8	5,4	24,5	5
<u>III</u>	24,1	27	>100	93,3
<u>IV</u>	26	20,7	23,8	11,2
<u>V</u>	45,3	43,1	31,7	46,7
<u>1</u>	>50	>50	>50	24,2
<u>2</u>	67,5	>100	>100	56,1
<u>3</u>	5,5	6,8	6,5	10,6
<u>4</u>	59,3	67,8	44,1	51,5

Tableau 29 : Activité antiproliférative *in vitro* sur les 4 lignées cellulaires cancéreuses (IC₅₀ en μ M).

Le composé le plus cytotoxique est le composé 3. Son activité est comparable à celle du composé II. Il semble que la substitution par un méthyle sur l'azote du cycle E soit favorable à la cytotoxicité lorsque le cycle D est de type imide non substitué ou substitué par un petit groupement (méthyle). Les anhydrides ne sont pas cytotoxiques (composés 1 et 2) peut être en raison de l'ouverture de l'anhydride dans le milieu biologique. Malgré l'augmentation de solubilité qu'elle entraîne, l'introduction d'une chaîne amine (composé 4) a tendance à diminuer l'activité antiproliférative par rapport au composé III, non substitué sur le cycle E.

C. Les composés substitués sur le cycle A

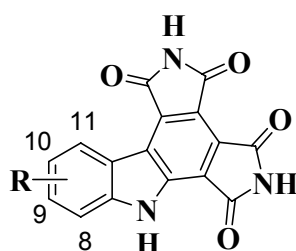


Figure 272 : Structure générale des composés substitués sur le cycle A.

R8	R9	R10	R11	N°	L1210	DU145	A549	HT29	HCT116
H	H	H	H	I	32,7	53,6	65,7	9,7	nt
H	H	H	OBn	<u>23</u>	Insoluble				
H	H	OBn	H	<u>24</u>	3,37	3,7	nt	3,7	
OBn	H	H	H	<u>25</u>	2,7	17,1	nt	18,6	
H	H	F	H	<u>26</u>	Insoluble				
H	H	Cl	H	<u>27</u>	Insoluble				
H	H	Br	H	<u>28</u>	3,615	10,1	nt	20	
H	Br	H	H	<u>29</u>	0,7	3,06	nt	3,1	
H	H	I	H	<u>30</u>	Insoluble				
H	H	Me	H	<u>31</u>	1,8	Nt	nt	3,29	2,2
H	H	OH	H	<u>35</u>	54,7 31,6	71,9	62,9	nt	nt
H	H	H	OMe	<u>38d</u>	17,1	Nt	nt	26,6	14,5
H	H	OMe	H	<u>37d</u>					
H	H	CO ₂ Me	H	<u>43d</u>	Insoluble				
H	Me	H	H	<u>42d</u>	2,2	Nt	nt	>100	4,9
H	Cl	H	H	<u>40d</u>	0,9	Nt	nt	9,8	1,5
	F	H	H	<u>39d</u>	7,3	Nt	nt	20,0	8,6
H	OH	H	H	<u>36d</u>	42,2	Nt	nt	42,5	16,4
Me	H	H	H	<u>41d</u>	18,5	Nt	nt	84,3	40,9/3,04
H	-OCH ₂ O-		H	<u>44d</u>					
H	H	Et	H	<u>50</u>	5,9	Nt	nt	16,4	7,6
H	H	CH=CHPh	H	<u>55</u>	2,3	Nt	nt	4,7	1,7
H	H	CH ₂ CH ₂ Ph	H	<u>56</u>	nt	Nt	nt	nt	nt
H	H	(CH ₂) ₃ O CH ₂ Ph	H	<u>65</u>	16,2	Nt	nt	40,5	16,4
H	H	(CH ₂) ₃ OH	H	<u>66</u>	17,8	Nt	nt	38,1	31,2

Tableau 30 : Activités antiprolifératives sur 5 lignées cellulaire (IC₅₀ en µM).
nt : non testé.

Les composés **26**, **27**, **30**, **43d** n'ont pas pu être testés car ils sont trop insolubles.

Le composé le plus cytotoxique est le composé **29** bromé en position 9. Son analogue chloré dans la même position (composé **40d**), présente une activité comparable sur L1210. La bromation en position 10 diminue l'activité (composé **28**). On remarque que l'introduction d'un hydroxyle en position 9 ou 10 diminue fortement la cytotoxicité (composés **35** et **36d**). Le composé **66** présentant un groupement hydroxyle terminal, est également peu cytotoxique. Le composé **42d** montre une cytotoxicité intéressante sur les lignées cellulaires tumorales L1210 et HCT116. En effet c'est le seul composé dans la série étudiée qui présente une sélectivité sur les cellules étudiées, il n'est pas cytotoxique sur HT29. En ce qui concerne les composés comportant un groupement hydrophobe, les composés les plus cytotoxiques sont le composé méthylé en position 10 (composé **31**) et le composé possédant une chaîne éthylénique **55**. Le groupement méthyle en position 8 (composé **41d**) diminue la cytotoxicité du composé (un peu moins sur HCT116). L'introduction d'un groupement éthyle en position 10 (composé **50**) n'a qu'une faible incidence sur la cytotoxicité, le composé **50** est cependant moins cytotoxique que l'analogue **31** portant un méthyle. Le composé benzylé en position 10 (composé **24**) a une cytotoxicité comparable à celle de son analogue benzylé en position 8 (composé **25**). L'introduction d'une chaîne hydrophobe plus encombrante diminue la cytotoxicité (composés **65** et **50**). Il semblerait que les composés substitués par des groupements hydrophiles soient moins cytotoxiques que ceux substitués par des groupements hydrophobes.

L'effet sur le cycle cellulaire L1210 pour certains de ces composés a été évalué (**Tableau 31**).

R8	R9	R10	R11	N°	Effet sur le cycle L1210
H	H	OBn	H	24	52% G1 (50µM)
OBn	H	H	H	25	NS
H	H	Br	H	28	NS (50µM)
H	Br	H	H	29	G2/M ++ (5µM)
H	H	Me	H	31	NS

Tableau 31 : Effet sur le cycle cellulaire de cellules de leucémie murine L1210 (concentration de la drogue). NS : non spécifique.

Les effets sur le cycle cellulaire de L1210 des composés sont très variables : le composé **24** agit sur la phase G1 alors que le composé **29** agit sur G2/M. Les autres composés n'ont pas d'effet spécifique. Il se pourrait que selon la position des substituants, les kinases-cibles soient différentes.

D. Les composés substitués sur le cycle B

Les structures des composés substitués sur l'azote du cycle B sont rappelées **Figure 273**.

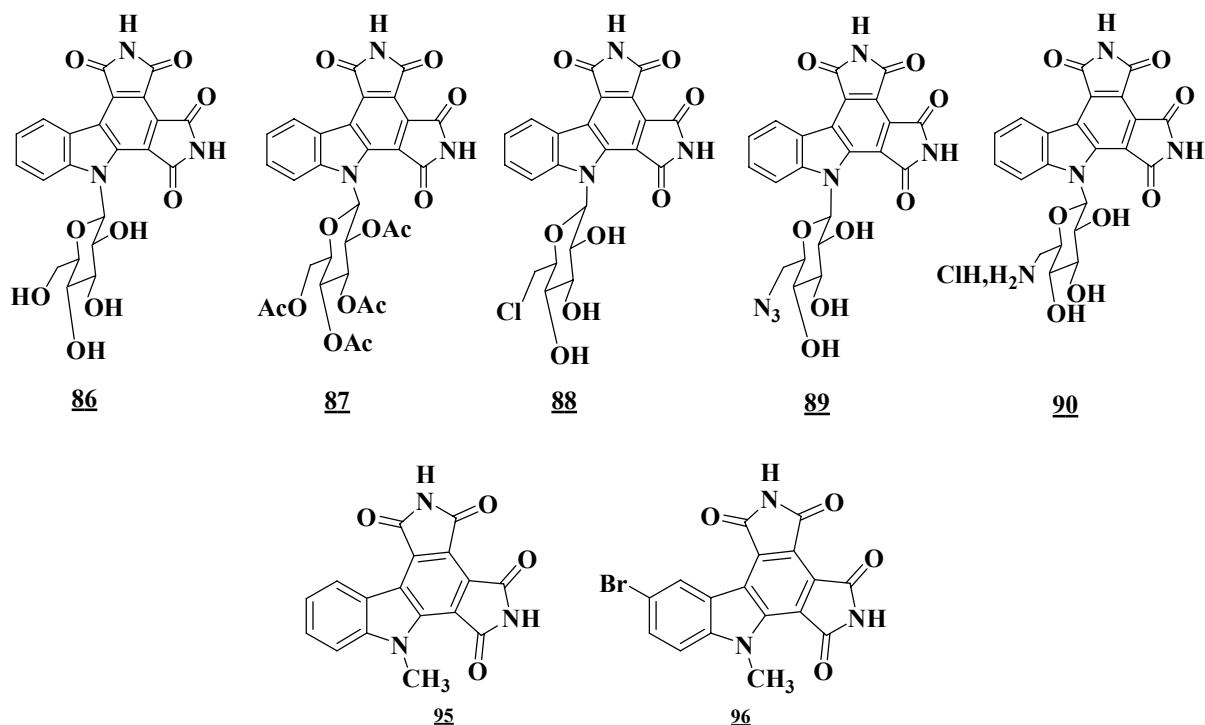


Figure 273 : Structures des analogues substitués sur l'azote du cycle B.

Composés	L1210	HCT116	HT29
<u>1</u>	32,7	nd	9,7
<u>86</u>	45,4	68,5	56,1
<u>87</u>	64,3	89,0	>100
<u>88</u>	40,8	54,2	>50, 42,9
<u>89</u>	63,8	94,5	>100
<u>90</u>	nd	nd	nd

Tableau 32 : Activités antiprolifératives sur les lignées cellulaires IC₅₀ (μM).
nd : non déterminé.

Les composés 95 et 96 substitués sur l'azote indolique par un méthyle n'ont pas pu être testés en raison de leur faible solubilité. Nous constatons que l'introduction d'un sucre sur l'azote indolique ne modifie pas de façon notable la cytotoxicité des composés par rapport au composé 1.

E. Les isostères azaindole du composé **1**

Les composés **104** et **109** ont été comparés aux analogues glycosylés **XVI** et **XVII** préparés par Samir Messaoudi.

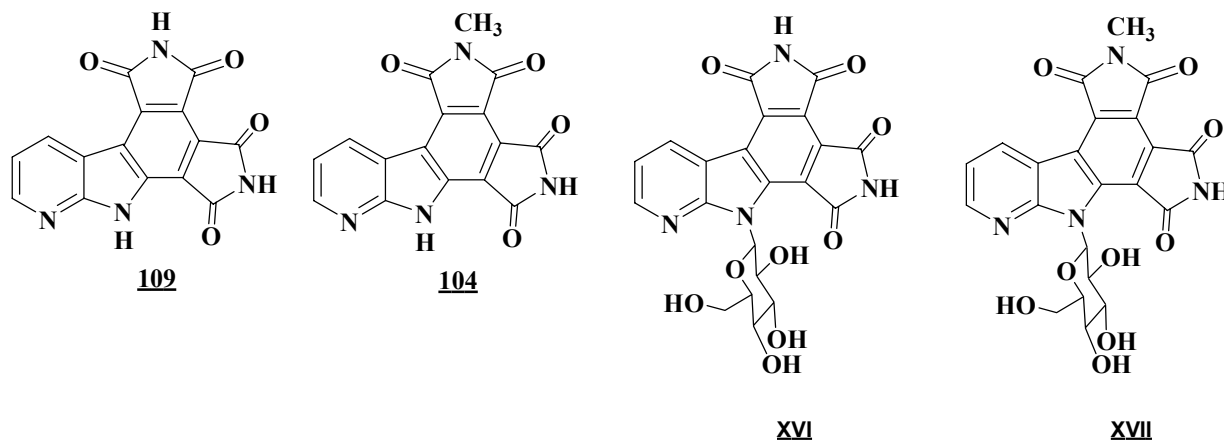


Figure 274 : Analogues en série 7-azaindole.

Composés	L1210	HCT116	HT29
1	32,7	Nt	9,7
XVI	109	73,6	18,8
XVII	18,1	29,3	29,3
104	21,7	nt	9
109	17,9	7,0	10,6

Tableau 33 : Activités antiprolifératives sur 3 lignées cellulaires IC₅₀ (μM).
nt : non testé.

On remarque que les composés glycosylés sont globalement moins cytotoxiques que leur analogues non glycosylés **104** et **109**. La présence d'un atome d'azote en position 8 ne modifie pas la cytotoxicité de façon significative (comparaison des composés **109** et **1**, et, en série glycosylée, composé **XVI** et **86**).

III. Conclusion

Nous pouvons remarquer que globalement, les composés préparés sont peu cytotoxiques, mis à part les composés substitués sur le cycle A par un brome ou un chlore en position 9 ou 10 (composés **29** et **40d**) et le composé **55** avec une chaîne éthylénique de configuration *E*. L'introduction de groupements solubilisants sur les cycles D, E (composés **V** et **4**) ou B (composés **86** à **90**) a tendance à diminuer la cytotoxicité.

De faibles valeurs sont souhaitées pour nos composés étant donné qu'il s'agit d'inhiber le point de contrôle en G2 : une faible cytotoxicité permettra de mieux évaluer le rôle de

l'inhibiteur du point de contrôle en G2 en présence d'un agent endommageant l'ADN (agent cytotoxique).

Néanmoins, l'absence de cytotoxicité peut également être due à la dégradation des composés dans le milieu biologique dans lequel les tests sont effectués. En effet, il a été observé par Nathalie Kucharczyk lors d'un test de stabilité sur plusieurs composés dans le milieu de culture (RPMI 1640), que les produits se dégradaient pour donner des formes ouvertes au niveau des imides (**Figure 275**). La structure des produits ouverts est proposée d'après leurs masses respectives mais il se pourrait que l'ouverture de cycle se fasse sur le cycle supérieur.

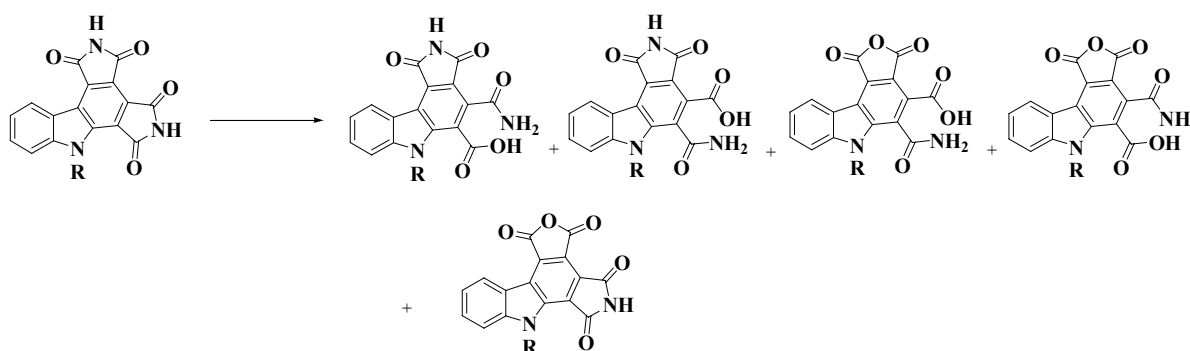


Figure 275 : Structures des composés isolés.

Une étude de suivi HPLC a permis de mettre en évidence la disparition du produit de départ après une nuit à 37 °C dans le milieu RPMI.

CONCLUSION

Et

PERSPECTIVES

Nous avons développé, au cours de ces travaux de recherche, la synthèse d'analogues de la granulitimide et de l'isogranulitimide, deux composés naturels isolés d'extraits de l'ascidie *Didemnum granulatum*. Ces analogues possèdent un hétérocycle imide à la place de l'imidazole présent chez la granulitimide et l'isogranulitimide. Ces analogues ont été préparés avec comme objectif l'obtention d'inhibiteurs du point de contrôle en G2 du cycle cellulaire.

Ce travail a été effectué en collaboration avec les Laboratoires SERVIER pour les synthèses en parallèle et pour les évaluations des activités biologiques des composés préparés.

Les composés qui ont été synthétisés sont des analogues du chef de file **1**, préparé au laboratoire au cours de la thèse de Bernadette Hugon.

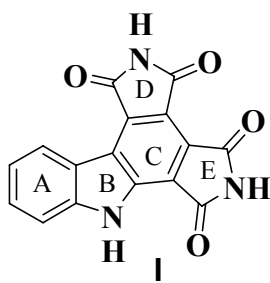


Figure 276 : Structure du composé **1**, chef de file.

Plusieurs modifications structurales ont été apportées à cette structure afin d'effectuer une étude de relations structure-activité :

- modification ou substitution des cycles D et E,
- substitution du cycle A,
- substitution du cycle B.

✓ Dans un premier temps, la synthèse d'analogues, dont les cycles D et E sont modifiés, a été effectuée, prolongeant les travaux déjà réalisés par Bernadette Hugon au laboratoire. Ainsi les composés **1-4** ont été préparés.

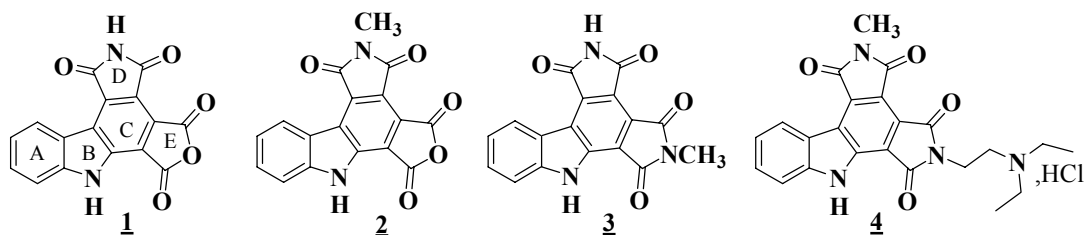


Figure 277 : Analogues dont les cycles D et E ont été modifiés.

- ✓ Nous nous sommes ensuite intéressés à la synthèse d'analogues substitués sur le cycle A. Pour cela, deux voies d'accès ont été développées :
 - à partir d'indoles commerciaux diversement substitués sur les carbones 4 à 7. Les bis-imides préparés par cette voie ont été préparés soit par synthèse classique en solution, soit par synthèse parallèle en solution avec l'utilisation des micro-ondes pour les réactions de Michaël et de Diels-Alder. L'utilisation d'un four micro-ondes a permis de baisser les temps de réaction et d'augmenter les rendements pour ces deux étapes.
 - par introduction de substituants par couplages pallado-catalysés en position 10 à partir de dérivés iodés.

18 nouveaux bis-imides ont pu être obtenus par la première voie d'accès (composés **23-31**, **35** et **36d-44d**) et 5 composés possédant une chaîne introduite par couplage pallado-catalysé à partir du 5-iodoindole (composé **50**, **55**, **56**, **65** et **66**).

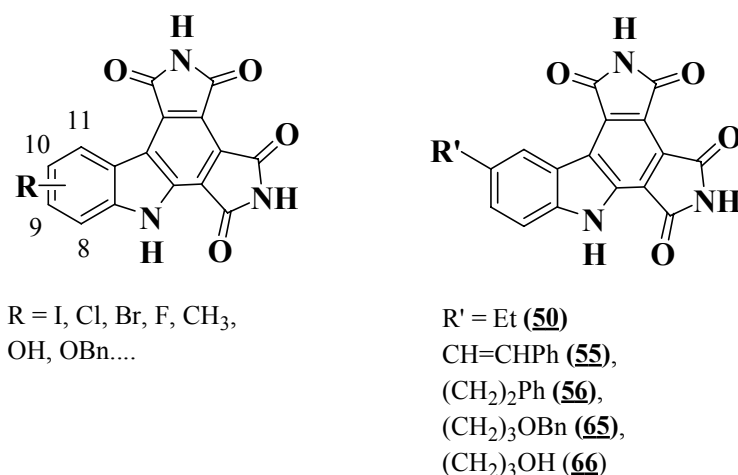


Figure 278 : Analogues substitués sur le cycle A.

Nous avons également développé une voie de synthèse permettant d'effectuer les réactions de couplages pallado-catalysés en fin de synthèse sur un dérivé iodé protégé par des groupements SEM, mais malheureusement la déprotection après la réaction de couplage a échoué et ne nous a pas permis d'accéder aux composés bis-imides désirés substitués sur le cycle A.

- ✓ Les analogues bis-imides de la granulatinimide sont généralement très peu solubles dans les solvants organiques et dans l'eau. Afin d'améliorer leur solubilité, un β -glucopyranoside a été introduit sur l'azote du cycle B (composé **86**). Des modifications de la partie osidique ont ensuite été apportées en vue d'accéder à une

meilleure biodisponibilité. En particulier, l'amine primaire en position 6 et le dérivé peracétylé sur la partie osidique ont été préparés (composé **87** et **90**).

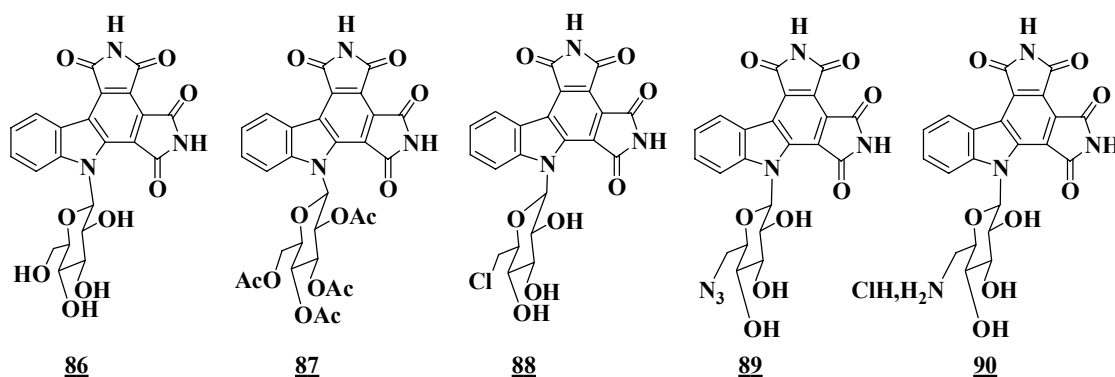


Figure 279 : Composés synthétisés comportant une partie osidique sur l'azote indolique.

- ✓ Nous nous sommes également intéressés à l'introduction d'autres groupements solubilisants contenant un résidu aminoacide. Une stratégie de synthèse a été mise au point permettant l'introduction sur l'azote du cycle B d'un substituant constitué d'un bras espaceur à trois chaînons et d'un résidu aminoacide. En raison de problèmes d'élimination des groupements protecteurs, ces synthèses n'ont pas pu être menées à leur terme.

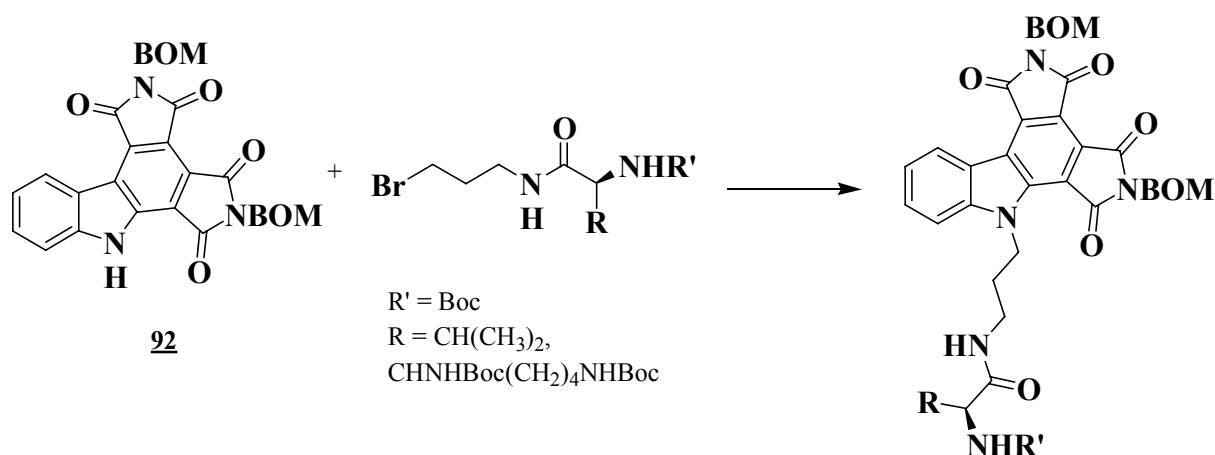


Figure 280 : Stratégie permettant l'introduction d'un résidu aminoacide.

- ✓ Afin d'évaluer l'importance de l'azote indolique libre, la substitution du cycle B par un groupement méthyle (composé **95** et **96**, Figure 281) a été effectuée. Malheureusement, en raison de problèmes de solubilité de ces composés, leur évaluation biologique n'a pas pu être réalisée.

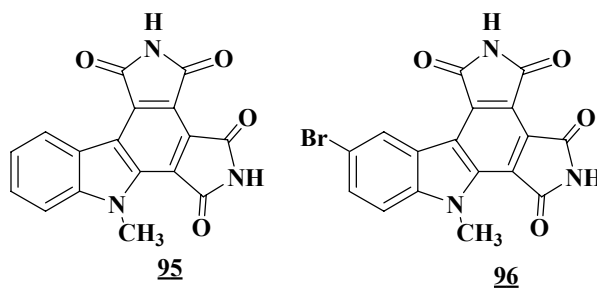


Figure 281 : Structures des composés méthylés sur l'azote du cycle B.

- ✓ Enfin, nous avons mis au point la synthèse de l'analogue bis-imide **1** dont l'indole a été remplacé par un 7-azaindole. L'analogue substitué par un groupement méthyle sur l'azote du cycle D a également été préparé.

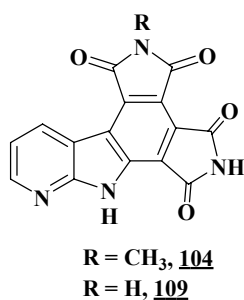


Figure 282 : Analogues azaindole

Les activités antiprolifératives de ces composés vis-à-vis de différentes lignées cellulaires cancéreuses humaines et murines ont été évaluées.

Des problèmes de déprotection ont été rencontrés au cours de la synthèse d'analogues substitués sur le cycle A (composés **75**, **76**, **77**, **Figure 283**) ou sur le cycle B (composés **98** et **99**, **Figure 283**).

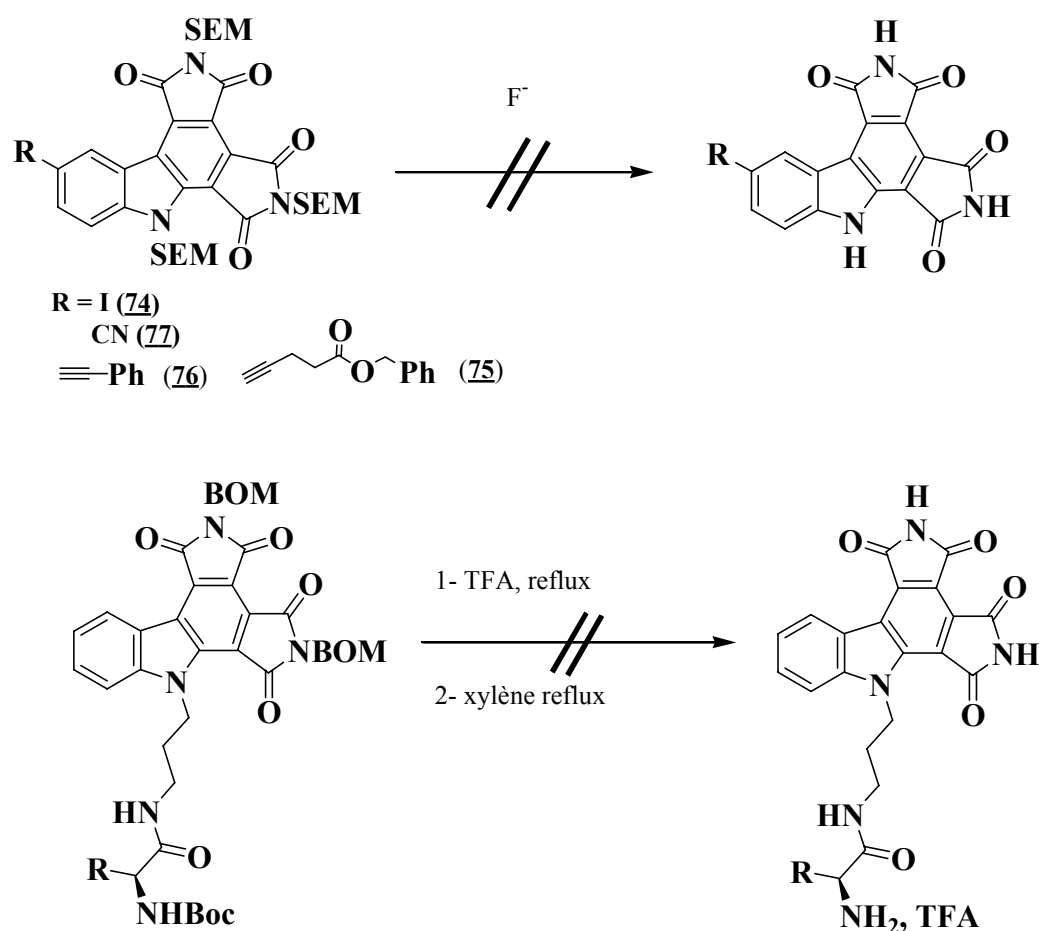


Figure 283 : Essais de déprotection.

Ces problèmes ne nous ont pas permis d'accéder aux composés désirés. Il sera nécessaire dans ces deux cas d'employer d'autres groupements protecteurs. Shen *et al.*⁹⁹ ont utilisé un nouveau groupement protecteur de type 2,4-diméthoxybenzyle (**Figure 284**) pour la synthèse de macrocycle bis-7-azaindolylmaléimide. Celui-ci pourra être envisagé dans la synthèse de nos composés.

⁹⁹ Shen L. ; Prouty C. ; Conway B. R. ; Westover L. ; Xu J. Z. ; Look R. A. ; Chen X. ; Beavers M. P. ; Roberts J. ; Murray W. V. ; Demarest K. T. ; Kuo G.-H. *Bioorg. Med. Chem.*, **2004**, 12, 1239-1255.

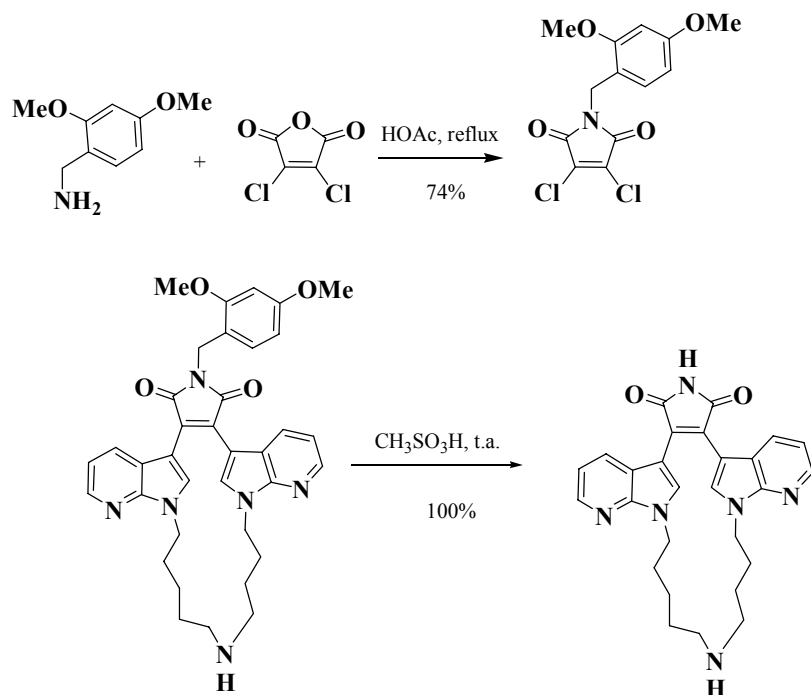


Figure 284 : Groupement protecteur et déprotection selon la méthode de Shen *et al.*

Ce groupement protecteur devra être introduit sur les structures bis-imides préformées afin d'éviter une déprotection au cours de l'oxydation au DDQ.¹²³

Au cours de ce travail nous avons rencontré des problèmes liés à la solubilité des composés préparés mais également liés à la réactivité des imides en présence de nucléophiles. En effet, il a été montré que, dans nos molécules, l'hétérocycle imide pourrait facilement se dégrader en présence d'un nucléophile ainsi que dans le milieu de culture employé pour les tests biologiques. Cette dégradation de nos composés dans le milieu biologique pourrait être à l'origine de leur faible cytotoxicité et pourrait nuire à leur pouvoir inhibiteur du point de contrôle en G2. Il serait intéressant d'effectuer les tests de stabilité dans le milieu de culture utilisé avec les composés qui présentent une certaine cytotoxicité (composés **29**, **31**, **40d**, **55**).

¹²³ Chern C.-Y. ; Huang Y.-P. ; Kan W. M. *Tetrahedron Lett.*, **2003**, 44, 1039-1042.

Troisième partie

PARTIE EXPERIMENTALE

I

Partie CHIMIE

Méthodes d'analyses

Les points de fusion ont été mesurés sur un microscope Reichert.

Les spectres infra-rouge (IR) ont été enregistrés sur un appareil Perkin-Elmer 881, Perkin-Elmer Paragon 500 ou Brüker Vector 22. Les spectres ont été réalisés à partir de pastilles de KBr ou en ATR pour les solides et sous forme de films (NaCl) pour les huiles. Les nombres d'onde des bandes principales sont exprimés en cm^{-1} .

Les spectres de masse haute résolution ont été réalisés au service de spectrométrie de masse de l'Université Blaise Pascal de Clermont-Ferrand en ionisation Electrospray positive (ESI+) sur un appareil Q-TOF 2 Micromass, ou à CESAMO (service de spectrométrie de masse, Talence) en ionisation FAB+ sur un spectromètre haute résolution FISIONS-Instrument Type AutoSpec-Q en mode FAC (canon à césium). La matrice est soit le glycérol, soit le thioglycérol, soit le NBA (NitroBenzyl Alcool), le polyéthylèneglycol servant d'étalon en FAB+.

Les spectres de masse basse résolution ont été réalisés au service de spectrométrie de masse l'Université Blaise Pascal de Clermont-Ferrand sur un spectromètre MS Hewlett Packard engine ou Q-TOF 2 Micromass avec les modes d'ionisation suivants :

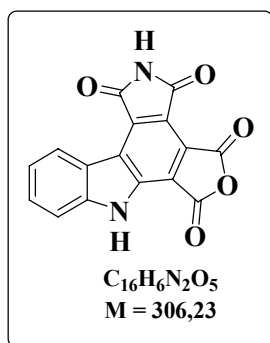
- ESI : Electrospray Ionization,
- IC : Chemical Ionization (APCI : Atmospheric Pressure Chemical Ionization),
- IE: Impact Electronique.

Les spectres de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) ont été enregistrés sur des spectromètres Avance 400 (400 MHz en ^1H et 100 MHz en ^{13}C), Brüker Avance 200 DPX (200 MHz en ^1H) et Avance 500 MHz (500 MHz en ^1H et 125 MHz en ^{13}C) pour certaines expériences 1D ou 2D de type HMBC, HSQC, COSY et NOESY. Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en partie par million (ppm). Les constantes de couplage (J) sont exprimées en hertz (Hz). Les abréviations utilisées pour l'interprétation des spectres sont les suivantes :

- s : singulet, se : signal élargi,
- d : doublet, dd : doublet dédoublé, ddd : doublet de doublets dédoublé, dt : doublet de triplets, pdt : pseudo doublet de triplets,
- t : triplet, td : triplet dédoublé, pt : pseudo triplet,
- q : quadruplet,
- m : multiplet.

Les différentes synthèses ont été suivies par chromatographie sur couche mince (CCM). Celles-ci ont été effectuées sur des plaques de silice MERCK 60 F - 254.

Les purifications par chromatographie sur gel de silice ont été effectuées sur silice KIESELGEL 60 (Merck) 0,063-0,200 mm ou sur silice flash GEDURAN SI 60 (Merck) 0,040-0,063 mm.

1,3,4,6-Tétrahydro-2*H*,7*H*-pyrano[3,4-*a*]pyrrolo[3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (1)**1**

Un mélange de 3-(indol-3-yl)-maléimide (200 mg ; 0,942 mmol) et d'anhydride maléique (111 mg ; 1,13 mmol ; 1,2 équiv.) dans le *p*-xylène (20 mL) est porté à reflux pendant 4 jours. Après retour à température ambiante, le mélange est filtré et les cristaux sont lavés au *p*-xylène puis séchés. Le solide jaune obtenu (274 mg) est chauffé à reflux dans le dioxane (15 mL) pendant 4 jours en présence de DDQ (441 mg ; 1,94 mmol). Après retour à température ambiante, de l'eau et de l'acétate d'éthyle sont ajoutés. Le solide à l'interface est filtré sur fritté, lavé à l'eau et à l'acétate d'éthyle, ce qui permet d'obtenir le produit 1 (235 mg ; 0,767 mmol ; R = 81% sur les deux étapes) sous la forme de cristaux oranges.

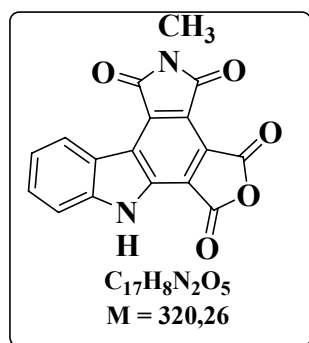
F > 300 °C

IR (KBr) : $\nu_{C=C} = 1610\text{ cm}^{-1}$; $\nu_{C=O} = 1700\text{-}1850\text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3240, 3380\text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (FAB+) calculée pour $C_{16}H_7N_2O_5$ $[M+H]^+$: 307,0355 ; trouvée : 307,0357.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 7,55 (1H, t, $J = 7,5\text{ Hz}$) ; 7,79 (1H, t, $J = 7,5\text{ Hz}$) ; 7,85 (1H, d, $J = 8,0\text{ Hz}$) ; 9,06 (1H, d, $J = 8,0\text{ Hz}$) ; 11,86 (1H, se, NH) ; 13,28 (1H, se, NH).

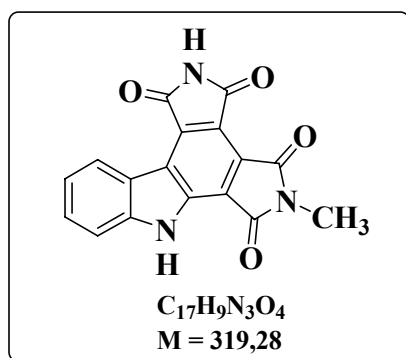
En raison de son insolubilité et de son instabilité dans le DMSO, le spectre de RMN ^{13}C du composé 1 n'a pu être enregistré.

1,3,4,6-Tétrahydro-1-méthyl-7H-pyrano[3,4-a]pyrrolo[3,4-c]carbazole-1,3,4,6-tétraone (2)**2**

Un mélange de *N*-méthyl-3-(indol-3-yl)-maléimide (315 mg ; 1,39 mmol) et d'anhydride maléique (164 mg ; 1,67 mmol ; 1,2 équiv.) dans le *p*-xylène (24 mL) est porté à reflux pendant 40 heures. Après retour à température ambiante, le mélange est filtré et les cristaux sont lavés au *p*-xylène puis séchés. Le solide orange obtenu (357 mg) est chauffé à reflux dans le dioxane (8 mL) pendant 3 jours en présence de DDQ (540 mg ; 2,38 mmol). Après retour à température ambiante, de l'eau et de l'acétate d'éthyle sont ajoutés. Le solide à l'interface est filtré sur fritté, lavé à l'eau et à l'acétate d'éthyle, ce qui permet de récupérer le composé **2** (235 mg ; 0,734 mmol ; R = 53% sur les deux étapes) sous la forme d'un solide jaune.

F > 300 °C

IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}} = 1705, 1760, 1835 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3370 \text{ cm}^{-1}$.Masse exacte (FAB+) calculée pour $\text{C}_{17}\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 321,0511 ; trouvée : 321,0513.RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 3,20 (3H, s, NCH₃) ; 7,51 (1H, ddd, $J_1 = 8,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 6,0 \text{ Hz}$, $J_3 = 2,0 \text{ Hz}$) ; 7,78 (2H, m) ; 8,99 (1H, d, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 13,22 (1H, s, NH).RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) : 23,9 (CH₃) ; 113,0 ; 121,2 ; 124,8 ; 129,1 (C tert arom) ; 112,6 ; 117,8 ; 119,3 ; 120,2 ; 128,5 ; 130,4 ; 142,6 ; 143,0 (C quat arom) ; 166,0 ; 167,0 ; 167,1 ; 167,6 (C=O).

1,3,4,6-Tétrahydro-5-méthyl-2*H*,7*H*-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (3**)****3**

Un mélange de 3-(indol-3-yl)-maléimide (193 mg ; 0,91 mmol) et de *N*-méthylmaléimide (121 mg ; 1,09 mmol ; 1,2 équiv.) dans le *p*-xylène (19 mL) est porté à reflux pendant une nuit. Après retour à température ambiante, le mélange est filtré et les cristaux sont lavés au *p*-xylène puis séchés. Le solide orange obtenu (223 mg) est chauffé à reflux dans le dioxane (12 mL) pendant 3 jours en présence de DDQ (344 mg ; 1,52 mmol). Après retour à température ambiante, de l'eau et de l'acétate d'éthyle sont ajoutés. Le solide à l'interface est filtré sur fritté, lavé à l'eau et à l'acétate d'éthyle, ce qui permet d'obtenir le produit **3** (187 mg ; 0,586 mmol ; R = 64% sur les deux étapes) sous la forme d'un solide orange.

F > 300 °C

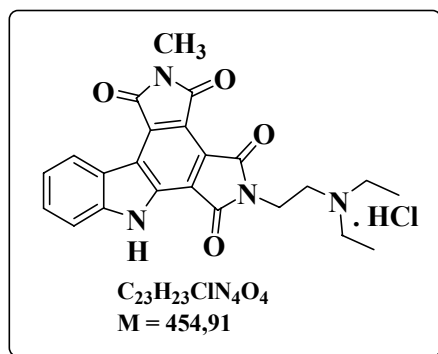
IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1695, 1725, 1765, 1775 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3220, 3330 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (FAB+) calculée pour $C_{17}H_9N_3O_4$ $[M+H]^+$: 320,0671 ; trouvée : 320,0677.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 3,16 (3H, s, NCH₃) ; 7,48 (1H, t, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 7,73 (1H, dt, $J_1 = 7,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,0 \text{ Hz}$) ; 7,82 (1H, d, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 9,04 (1H, d, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 11,65 (1H, s, NH) ; 12,83 (1H, s, NH).

En raison de son insolubilité dans le DMSO, le spectre de RMN ^{13}C du composé **3** n'a pu être enregistré.

5-(2-*N,N*-diéthylaminoéthyl)-1,3,4,6-tétrahydro-2-méthyl-7*H*-pyrrolo[3,4-*a*]pyrrolo[3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone hydrochloride (4)



4

A une solution d'anhydride 2 (30 mg ; 0,094 mmol) dans du THF anhydre (5,5 mL), est ajoutée goutte à goutte la *N,N*-diéthyléthylènediamine commerciale (20 μ L ; 0,142 mmol). Le mélange est porté à 65 °C pendant 4 jours à l'abri de la lumière. Après retour à température ambiante le milieu est évaporé à sec, repris dans 1 mL d'anhydride acétique en présence d'AcONa (75 mg ; 0,91 mmol), puis chauffé à 90 °C pendant 4 heures. Le brut réactionnel est refroidi puis repris avec un mélange d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 1N (40 mL) et d'acétate d'éthyle. La phase aqueuse est alors reprise avec de l'acétate d'éthyle et traitée par une solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium. Le produit organique est alors extrait avec de l'acétate d'éthyle (3 x 50 mL). Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur sulfate de magnésium et le solvant est évaporé à froid. L'amine libre est ainsi obtenue sous forme d'un solide jaune (32,8 mg).

A une solution de l'amine libre dans le méthanol (1 mL), refroidie à 0 °C, est ajoutée goutte à goutte une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 1N (172 μ L ; 0,172 mmol). Le mélange est agité pendant 30 minutes. Le solvant est évaporé ce qui permet d'obtenir le chlorhydrate de l'amine 4 (30,9 mg ; 0,068 mmol ; R = 72%) sous la forme d'un solide jaune orangé.

F = 278-280 °C

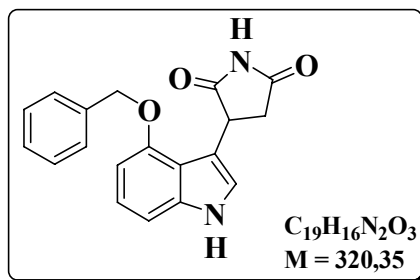
IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1710, 1770 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3200, 3600 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (FAB+) calculée pour $C_{23}H_{23}N_4O_4 [M+H]^+$: 419,1719 ; trouvée : 419,1720.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,29 (6H, t, $J = 7,0 \text{ Hz}$) ; 3,19 (3H, s, NCH $_3$) ; 3,31 (4H, m) ; 3,46 (2H, m) ; 4,08 (2H, t, $J = 6,5 \text{ Hz}$) ; 7,48 (1H, t, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 7,74 (1H, t, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 7,81 (1H, d, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 9,00 (1H, d, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 10,04 (1H, se) ; 12,87 (1H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 8,2 (2C) ; 24,0 (CH₃) ; 32,5 ; 46,1 (2C) ; 47,9 (CH₂) ; 112,9 ; 121,8 ; 125,4 ; 130,3 (CH arom) ; 116,3 ; 118,3 ; 119,1 ; 124,3 (2C) ; 130,0 ; 136,5 ; 144,2 (C quat arom) ; 164,7 ; 164,9 ; 166,8 ; 167,5 (C=O)

4-Benzyloxy-3-(2,5-dioxopyrrolidin-3-yl)-1H-indole (**5**)



5

Un mélange de 4-benzyloxyindole (250 g ; 1,12 mmol) et de maléimide (114 mg ; 1,17 mmol ; 1,05 équiv.) dans l'acide acétique (1 mL) est chauffé à reflux pendant 36 h. Après évaporation de l'acide acétique, la purification du brut réactionnel par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution : cyclohexane/acétate d'éthyle de 7:3 à 4:6) conduit à l'obtention du composé **5** (182 mg ; 0,57 mmol ; R = 51%) sous la forme d'un solide gris.

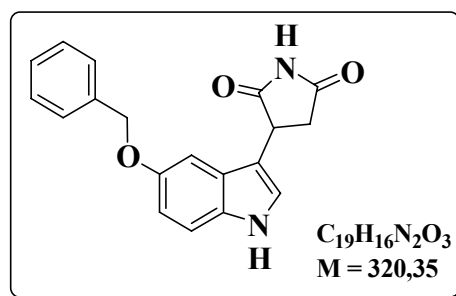
F = 225-234 °C

IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}} = 1705, 1775 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3250\text{-}3500 \text{ cm}^{-1}$.

Masse (ESI+) m/z : 343 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,77 (1H, dd, $J_1 = 17,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 6,0 \text{ Hz}$) ; 3,08 (1H, dd, $J_1 = 17,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 9,5 \text{ Hz}$) ; 4,38 (1H, dd, $J_1 = 9,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 6,0 \text{ Hz}$) ; 5,17 (1H, d, $J = 13,5 \text{ Hz}$) ; 5,22 (1H, d, $J = 13,5 \text{ Hz}$) ; 6,38 (1H, dd, $J_1 = 7,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,0 \text{ Hz}$) ; 6,91 (1H, t, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 6,96 (1H, dd, $J_1 = 8,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,0 \text{ Hz}$) ; 7,21 (1H, d, $J = 2,5 \text{ Hz}$) ; 7,28-7,33 (1H, m) ; 7,35-7,41 (2H, m) ; 7,44-7,48 (2H, m) ; 11,02 (1H, d, $J = 2,0 \text{ Hz}$, NH) ; 11,17 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 39,4 ; 68,5 (CH₂) ; 40,2 (CH) ; 100,5 ; 104,9 ; 122,0 ; 123,8 ; 127,1 (2C) ; 127,5 ; 128,4 (2C) (CH arom) ; 110,5 ; 115,7 ; 137,5 ; 138,5 ; 151,5 (C arom) ; 178,4 ; 180,5 (C=O).

5-Benzyloxy-3-(2,5-dioxopyrrolidin-3-yl)-1*H*-indole (6**)****6**

Un mélange de 5-benzyloxyindole (1,79 g ; 8,0 mmol) et de maléimide (776 mg ; 8,0 mmol) dans l'acide acétique (8 mL) est chauffé à reflux pendant 24 h. Après évaporation de l'acide acétique, la purification du brut réactionnel par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution : cyclohexane/acétate d'éthyle 2:8 à 7:3) conduit à l'obtention d'un solide orange qui est repris dans l'acétate d'éthyle. Après filtration, le composé **6** (1,01 g ; 3,16 mmol ; R = 39%) est obtenu sous la forme d'un solide jaune clair.

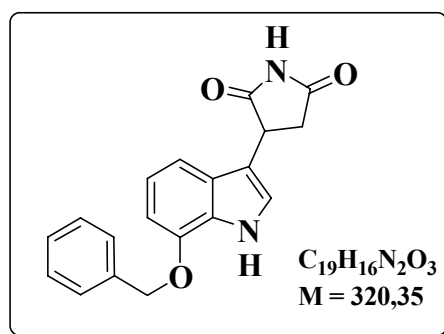
F = 175 °C

IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1690, 1780 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3210, 3420 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (FAB+) calculée pour $C_{19}H_{16}N_2O_3$ $[M]^+$: 320,1161 ; trouvée : 320,1169.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,76 (1H, dd, $J_1 = 18,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 5,5 \text{ Hz}$) ; 3,21 (1H, dd, $J_1 = 18,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 9,5 \text{ Hz}$) ; 4,33 (1H, dd, $J_1 = 9,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 5,5 \text{ Hz}$) ; 5,10 (2H, s) ; 6,88 (1H, dd, $J_1 = 9,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 2,5 \text{ Hz}$) ; 7,06 (1H, d, $J = 2,5 \text{ Hz}$) ; 7,31 (1H, d, $J = 9,0 \text{ Hz}$) ; 7,31 (1H, d, $J = 2,5 \text{ Hz}$) ; 7,36 (1H, m) ; 7,43 (2H, m) ; 7,51 (2H, m) ; 10,92 (1H, d, $J = 2,0 \text{ Hz}$, NH) ; 11,32 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 37,3 ; 69,9 (CH₂) ; 38,9 (CH) ; 102,2 ; 111,8 ; 112,3 ; 123,9 ; 127,6 ; 127,7 (2C) ; 128,3 (2C) (C tert arom.) ; 110,6 ; 126,4 ; 131,7 ; 137,6 ; 152,1 (C quat arom.) ; 178,0 ; 179,8 (C=O).

7-Benzyloxy-3-(2,5-dioxopyrrolidin-3-yl)-1*H*-indole (7)**7**

Un mélange de 7-benzyloxyindole (200 mg ; 0,90 mmol) et de maléimide (91 mg ; 0,94 mmol ; 1,05 équiv.) dans l'acide acétique (1 mL) est chauffé à reflux pendant 24 h. Après évaporation de l'acide acétique, la purification du brut réactionnel par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution : cyclohexane/acétate d'éthyle de 7:3 à 5:5) conduit à l'obtention du composé **7** (116 mg ; 0,362 mmol ; R = 40%) sous la forme d'un solide jaune.

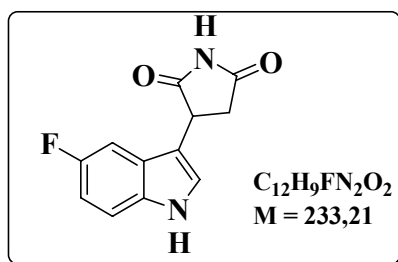
F = 192-197 °C

IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1690, 1775 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3320 \text{ cm}^{-1}$.

Masse (ESI+) m/z : 343 $[M+Na]^+$

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,78 (1H, dd, $J_1 = 18,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 5,5 \text{ Hz}$) ; 3,21 (1H, dd, $J_1 = 18,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 9,5 \text{ Hz}$) ; 4,34 (1H, dd, $J_1 = 9,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 5,5 \text{ Hz}$) ; 5,30 (2H, s) ; 6,79 (1H, d, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 6,94 (1H, t, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 7,04 (1H, d, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 7,28 (1H, d, $J = 2,5 \text{ Hz}$) ; 7,34-7,39 (1H, m) ; 7,42-7,47 (2H, m) ; 7,57-7,62 (2H, m) ; 11,20 (1H, se, NH) ; 11,34 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 37,5 ; 69,2 (CH₂) ; 39,1 (CH) ; 103,3 ; 111,4 ; 119,3 ; 123,1 ; 127,5 (2C) ; 127,7 ; 128,4 (2C) (CH arom) ; 111,5 ; 126,8 ; 127,6 ; 137,4 ; 145,2 (C arom) ; 178,1 ; 179,9 (C=O).

3-(2,5-Dioxopyrrolidin-3-yl)-5-fluoro-1*H*-indole (8**)**

Un mélange de 5-fluoro-indole (1,0 g ; 7,40 mmol) et de maléimide (718 mg ; 7,40 mmol) dans l'acide acétique (7 mL) est chauffé à reflux pendant 36 h. Après évaporation de l'acide acétique, la purification du brut réactionnel par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution : cyclohexane/acétate d'éthyle 3:7 à 7:3) conduit à l'obtention du produit **8** (679 mg ; 2,92 mmol ; R = 40%) sous la forme d'un solide orange.

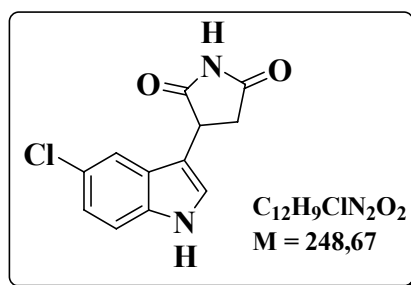
F = 190-195 °C

IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}}$ = 1690, 1775 cm^{-1} ; ν_{NH} = 3360 cm^{-1} .

Masse exacte (FAB+) calculée pour $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_2\text{F} [\text{M}]^+$: 232,0648 ; trouvée : 232,0644.

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 2,83 (1H, dd, $J_1 = 18,0$ Hz, $J_2 = 5,5$ Hz) ; 3,21 (1H, dd, $J_1 = 18,0$ Hz, $J_2 = 9,5$ Hz) ; 4,37 (1H, dd, $J_1 = 9,5$ Hz, $J_2 = 5,5$ Hz) ; 6,99 (1H, dt, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 2,5$ Hz) ; 7,24 (1H, dd, $J_1 = 10,0$ Hz, $J_2 = 2,5$ Hz) ; 7,40 (1H, dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 4,5$ Hz) ; 7,45 (1H, d, $J = 2,5$ Hz) ; 11,18 (1H, s, NH) ; 11,33 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 37,1 (CH_2) ; 38,7 (CH) ; 103,3 (d, $J_{\text{C,F}} = 23$ Hz) ; 109,5 (d, $J_{\text{C,F}} = 26$ Hz) ; 112,6 (d, $J_{\text{C,F}} = 9,5$ Hz) ; 125,2 (C tert arom.) ; 111,2 (d, $J_{\text{C,F}} = 4,5$ Hz) ; 126,4 (d, $J_{\text{C,F}} = 10$ Hz) ; 133,1 ; 156,7 (d, $J_{\text{C,F}} = 232$ Hz) (C quat arom.) ; 177,9 ; 179,7 (C=O).

5-Chloro-3-(2,5-dioxopyrrolidin-3-yl)-1H-indole (9**)****9**

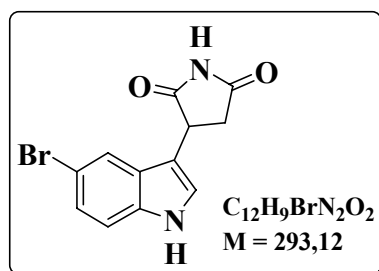
Un mélange de 5-chloro-indole (1,0 g ; 6,6 mmol) et de maléimide (640 mg ; 6,6 mmol) dans l'acide acétique (6,6 mL) est chauffé à reflux pendant 24 h. Après évaporation de l'acide acétique, la purification du brut réactionnel par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution : cyclohexane/acétate d'éthyle de 3:7 à 7:3) conduit à l'obtention du produit **9** (412 mg ; 1,66 mmol ; R = 25%) sous la forme d'un solide orange.

IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1700, 1780 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3200\text{-}3500 \text{ cm}^{-1}$

Masse exacte (FAB+) calculée pour $C_{12}H_9N_2O_2Cl [M]^+$: 248,0353 ; trouvée : 248,0354.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,84 (1H, dd, $J_1 = 18,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 5,5 \text{ Hz}$) ; 3,21 (1H, dd, $J_1 = 18,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 9,5 \text{ Hz}$) ; 4,40 (1H, dd, $J_1 = 9,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 5,5 \text{ Hz}$) ; 7,14 (1H, dd, $J_1 = 8,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 2,0 \text{ Hz}$) ; 7,43 (1H, d, $J = 8,5 \text{ Hz}$) ; 7,46 (1H, d, $J = 2,5 \text{ Hz}$) ; 7,53 (1H, d, $J = 2,0 \text{ Hz}$) ; 11,29 (1H, s, NH) ; 11,34 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 37,0 (CH_2) ; 38,6 (CH) ; 113,2 ; 117,9 ; 121,3 ; 125,0 (C tert arom.) ; 110,8 ; 123,4 ; 127,3 ; 134,9 (C quat arom.) ; 177,9 ; 179,7 (C=O).

5-Bromo-3-(2,5-dioxopyrrolidin-3-yl)-1H-indole (10**)****10**

Un mélange de 5-bromo-indole (1,0 g ; 5,10 mmol) et de maléimide (495 mg ; 5,10 mmol) dans l'acide acétique (4,6 mL) est chauffé à reflux pendant 48 h. Après retour à température ambiante,

l'acide acétique est évaporé. La purification du brut réactionnel par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution : cyclohexane/acétate d'éthyle de 2:8 à 7:3) conduit à l'obtention du composé **10** (647 mg ; 2,21 mmol ; R = 43%) sous la forme d'un solide jaune clair.

F = 208 – 215 °C

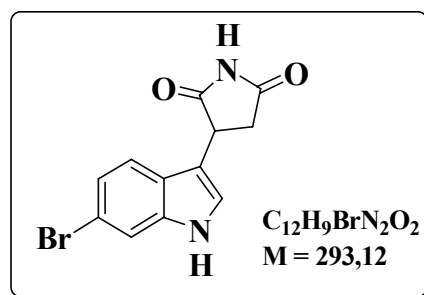
IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}}$ = 1700, 1775 cm^{-1} ; ν_{NH} = 3420 cm^{-1} .

Masse exacte (FAB+) calculée pour $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2\text{Br}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 292,9926 ; trouvée : 292,9915.

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 2,84 (1H, dd, $J_1 = 18,0$ Hz, $J_2 = 5,5$ Hz) ; 3,20 (1H, dd, $J_1 = 18,0$ Hz, $J_2 = 9,5$ Hz) ; 4,40 (1H, dd, $J_1 = 9,5$ Hz, $J_2 = 5,5$ Hz) ; 7,25 (1H, dd, $J_1 = 8,5$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz) ; 7,38 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,45 (1H, d, $J = 2,5$ Hz) ; 7,68 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) ; 11,30 (1H, s, NH) ; 11,35 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 34,0 (CH_2) ; 35,6 (CH) ; 113,7 ; 120,9 ; 123,8 ; 124,8 (C tert arom) ; 110,8 ; 111,3 ; 128,1 ; 135,1 (C quat arom) ; 177,9 ; 179,7 (C=O).

6-Bromo-3-(2,5-dioxypyrrolidin-3-yl)-1H-indole (**11**)



11

Un mélange de 6-bromoindole (500 mg ; 2,55 mmol) et de maléimide (260 mg ; 2,68 mmol ; 1,05 équiv.) dans l'acide acétique (2,3 mL) est chauffé à reflux pendant 48 h. Après retour à température ambiante, l'acide acétique est évaporé. La purification du brut réactionnel par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution : cyclohexane/acétate d'éthyle de 7:3 à 4:6) conduit à l'obtention du composé **11** (338 mg ; 1,15 mmol ; R = 45%) sous la forme d'un solide jaune clair.

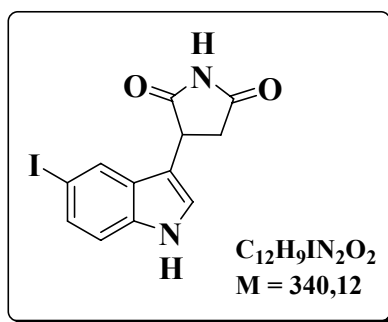
F = 228 °C.

IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}} = 1700, 1770 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3440 \text{ cm}^{-1}$.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,82 (1H, dd, $J_1 = 18,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 5,5 \text{ Hz}$) ; 3,21 (1H, dd, $J_1 = 18,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 9,5 \text{ Hz}$) ; 4,38 (1H, dd, $J_1 = 9,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 5,5 \text{ Hz}$) ; 7,18 (1H, dd, $J_1 = 8,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 2,0 \text{ Hz}$) ; 7,41 (1H, d, $J = 2,5 \text{ Hz}$) ; 7,45 (1H, d, $J = 8,5 \text{ Hz}$) ; 7,60 (1H, d, $J = 2,0 \text{ Hz}$) ; 11,22 (1H, se, NH) ; 11,34 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 37,1 (CH_2) ; 38,7 (CH) ; 111,3 ; 114,1 ; 125,2 ; 137,3 (CH arom) ; 114,2 ; 120,4 ; 121,6 ; 124,3 (C arom) ; 177,9 ; 179,7 (C=O).

3-(2,5-Dioxopyrrolidin-3-yl)- 5-iodo-1*H*-indole (**12**)



12

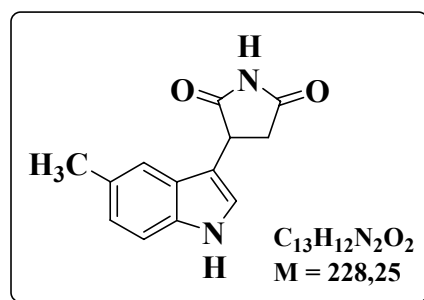
Un mélange de 5-iodoindole (500 mg ; 2,06 mmol) et de maléimide (2,0 g ; 20,6 mmol) dans l'eau (2,5 mL) et le méthanol (2,5 mL) est chauffé à reflux pendant 48 heures. Après évaporation des solvants, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution : cyclohexane/acétate d'éthyle de 7:3 à 5:5) ce qui permet d'obtenir le composé **12** sous la forme d'un solide blanc-cassé (335 mg ; 0,98 mmol ; R = 48%)

F = 220-222 °C

IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}} = 1706, 1774 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3412 \text{ cm}^{-1}$.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,83 (1H, dd, $J_1 = 18,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 5,5 \text{ Hz}$) ; 3,20 (1H, dd, $J_1 = 18,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 9,5 \text{ Hz}$) ; 4,39 (1H, dd, $J_1 = 9,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 5,5 \text{ Hz}$) ; 7,28 (1H, d, $J = 8,5 \text{ Hz}$) ; 7,37-7,42 (2H, m) ; 7,86 (1H, s) ; 11,28 (1H, se, NH) ; 11,34 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 37,1 (CH_2) ; 38,6 (CH) ; 82,5 ; 110,4 ; 129,0 ; 135,5 (C arom) ; 114,1 ; 124,3 ; 127,0 ; 129,3 (CH arom) ; 177,9 ; 179,7 (C=O).

3-(2,5-dioxopyrrolidin-3-yl)-5-méthyl-1*H*-indole (13**)**

Un mélange de 5-méthylindole (1,00 g ; 7,62 mmol) et de maléimide (740 mg ; 7,62 mmol) dans l'acide acétique (7,7 mL) est chauffé à reflux pendant 24 h. Après évaporation de l'acide acétique, la purification du brut réactionnel par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 6:4) conduit à l'obtention du composé **13** sous la forme d'un solide jaune (586 mg ; 2,57 mmol ; R = 34%).

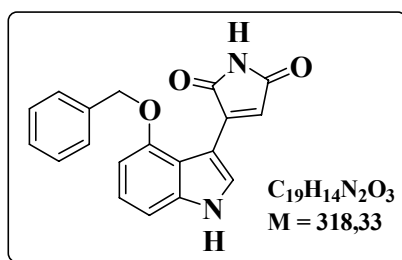
F = 220-225 °C

IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}}$ = 1685, 1775 cm^{-1} ; ν_{NH} = 3100-3500 cm^{-1} .

Masse (ESI+) m/z : 251 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,40 (3H, s, CH₃) ; 2,78 (1H, dd, J_1 = 18,0 Hz, J_2 = 5,5 Hz) ; 3,20 (1H, dd, J_1 = 18,0 Hz, J_2 = 9,5 Hz) ; 4,33 (1H, dd, J_1 = 9,5 Hz, J_2 = 5,5 Hz) ; 6,96 (1H, dd, J_1 = 8,0 Hz, J_2 = 1,5 Hz) ; 7,22 (1H, s) ; 7,29 (1H, d, J = 8,0 Hz) ; 7,30 (1H, d, J = 2,5 Hz) ; 10,93 (1H, s, NH) ; 11,33 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 21,3 (CH₃) ; 37,4 (CH₂) ; 39,0 (CH) ; 111,4 ; 117,9 ; 122,9 ; 123,4 (CH arom.) ; 110,3 ; 126,2 ; 127,1 ; 134,8 (C arom) ; 178,1 ; 179,9 (C=O).

4-Benzyloxy-3-(2,5-dihydro-2,5-dioxo-pyrrol-3-yl)-1H-indole (14)**14**

Une solution de DDQ (309 mg ; 1,36 mmol ; 1,05 équiv.) dans le dioxane (12 mL) est additionnée lentement à une solution de composé 5 (416 mg ; 1,30 mmol) dans le dioxane (12 mL). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant une nuit puis filtré sur verre fritté. Le filtrat est évaporé sous pression réduite. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 7:3) ce qui permet d'obtenir le composé 14 (339 mg ; 1,06 mmol ; R = 82%) sous la forme d'un solide orange.

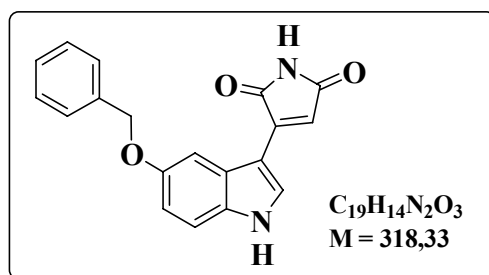
F = 248 °C

IR (KBr) : $\nu_{C=C} = 1590\text{ cm}^{-1}$; $\nu_{C=O} = 1695, 1750\text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3100\text{-}3450\text{ cm}^{-1}$.

Masse (ESI+) m/z : 341 $[M+Na]^+$

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 5,29 (2H, s) ; 6,74 (1H, s) ; 6,82 (1H, dd, $J_1 = 7,5\text{ Hz}$, $J_2 = 1,0\text{ Hz}$) ; 7,14 (1H, dd, $J_1 = 8,0\text{ Hz}$, $J_2 = 1,0\text{ Hz}$) ; 7,18 (1H, t, $J = 8,0\text{ Hz}$) ; 7,36-7,46 (3H, m) ; 7,50-7,54 (2H, m) ; 8,31 (1H, s) ; 10,65 (1H, se, NH) ; 12,02 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 69,8 (CH₂) ; 103,4 ; 105,9 ; 119,6 ; 124,2 ; 128,0 ; 128,1 (2C) ; 128,6 (2C) ; 130,4 (CH) ; 105,9 ; 115,4 ; 136,6 ; 138,7 ; 139,3 ; 152,5 (C) ; 172,8 ; 173,4 (C=O).

5-Benzyloxy-3-(2,5-dihydro-2,5-dioxo-pyrrol-3-yl)-1H-indole (15)**15**

Une solution de DDQ (339 mg ; 1,49 mmol ; 1,05 équiv.) dans le dioxane (15 mL) est additionnée lentement à une solution de composé **6** (456 mg ; 1,42 mmol) dans le dioxane (15 mL). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant une nuit, puis filtré sur fritté. Le filtrat est évaporé sous pression réduite. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 7:3) ce qui permet d'obtenir le composé **15** (409 mg ; 1,28 mmol ; R = 90%) sous la forme d'un solide orange.

F = 211 °C

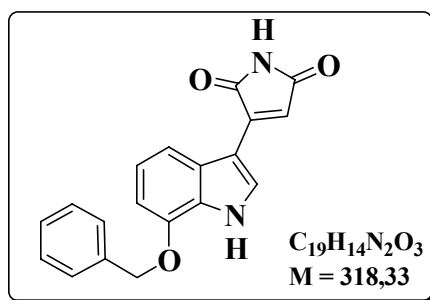
IR (KBr) : $\nu_{C=C}$ = 1600 cm^{-1} ; $\nu_{C=O}$ = 1705, 1755 cm^{-1} ; ν_{NH} = 3150-3450 cm^{-1} .

Masse exacte (FAB+) calculée pour $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 319,1083 ; trouvée : 319,1089.

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 5,25 (2H, s) ; 6,86 (1H, s) ; 6,99 (1H, dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 2,5$ Hz) ; 7,36 (1H, m) ; 7,44 (2H, m) ; 7,46 (1H, d, $J = 9,0$ Hz) ; 7,50 (1H, d, $J = 2,5$ Hz) ; 7,54 (2H, m) ; 8,35 (1H, s) ; 10,77 (1H, se, NH) ; 11,93 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 69,9 (CH_2) ; 103,9 ; 113,3 ; 113,5 ; 114,7 ; 127,6 ; 127,7 (2C) ; 128,4 (2C) ; 131,2 (C tert) ; 105,3 ; 126,2 ; 131,6 ; 137,6 ; 139,4 ; 154,2 (C quat) ; 173,3 ; 173,5 (C=O).

7-Benzyloxy-3-(2,5-dihydro-2,5-dioxo-pyrrol-3-yl)-1H-indole (**16**)



16

Une solution de DDQ (76 mg ; 0,335 mmol ; 1,05 équiv.) dans le dioxane (3 mL) est additionnée lentement à une solution de composé **7** (102 mg ; 0,318 mmol) dans le dioxane (3 mL). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant une nuit puis filtré sur verre fritté. Le filtrat est évaporé sous pression réduite. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 7:3) ce qui permet d'obtenir le composé **16** (94 mg ; 0,295 mmol ; R = 93%) sous la forme d'un solide orange.

F = 173-183 °C

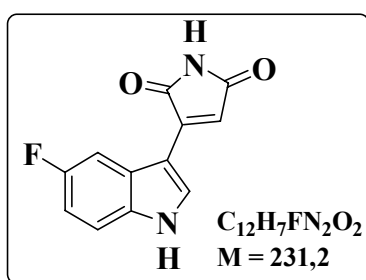
IR (KBr) : $\nu_{C=C} = 1605 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{C=O} = 1705, 1760 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3100-3400 \text{ cm}^{-1}$.

Masse (ESI+) m/z : 341 $[M+Na]^+$

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 5,34 (2H, s) ; 6,79 (1H, s) ; 6,98 (1H, d, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 7,16 (1H, t, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 7,36-7,41 (1H, m) ; 7,43-7,49 (2H, m) ; 7,58 (1H, d, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 7,61 (2H, d, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 8,26 (1H, s) ; 10,79 (1H, se, NH) ; 12,21 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 69,4 (CH_2) ; 105,1 ; 113,1 ; 115,3 ; 122,2 ; 127,7 (2C) ; 127,9 ; 128,4 (2C) ; 130,1 (CH) ; 105,9 ; 126,7 ; 127,3 ; 137,0 ; 139,5 ; 145,5 (C) ; 173,2 ; 173,3 (C=O).

3-(2,5-Dihydro-2,5-dioxo-pyrrol-3-yl)-5-fluoro-1H-indole (**17**)



17

Une solution de DDQ (584 mg ; 2,57 mmol ; 1,05 équiv.) dans le dioxane (24 mL) est additionnée lentement à une solution de composé **8** (569 mg ; 2,45 mmol) dans le dioxane (24 mL). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante une nuit, puis filtré sur fritté. Le filtrat est évaporé sous pression réduite. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 7:3) ce qui permet d'obtenir le composé **17** (464,5 mg ; 2,02 mmol ; R = 82%) sous la forme d'un solide orange.

F = 255-265 °C

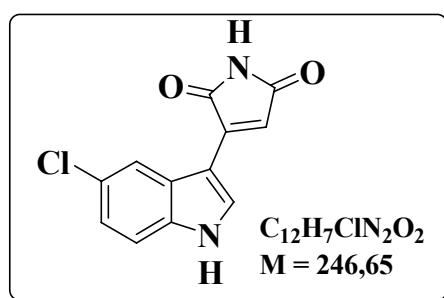
IR (KBr) : $\nu_{C=C} = 1605 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{C=O} = 1720, 1750 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3150-3350 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (FAB+) calculée pour $C_{12}H_8N_2O_2F$ $[M+H]^+$: 231,0570 ; trouvée : 231,0567.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 6,91 (1H, d, $J = 0,5$ Hz) ; 7,14 (1H, dt, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 2,5$ Hz) ; 7,56 (1H, dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 4,5$ Hz) ; 7,83 (1H, dd, $J_1 = 10,0$ Hz, $J_2 = 2,5$ Hz) ; 8,44 (1H, d, $J = 2,5$ Hz) ; 10,81 (1H, s, NH) ; 12,13 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 105,7 (d, $J_{\text{C,F}} = 25$ Hz) ; 111,0 (d, $J_{\text{C,F}} = 26$ Hz) ; 113,6 (d, $J_{\text{C,F}} = 10$ Hz) ; 115,8 ; 132,4 (CH) ; 105,5 ; 125,9 (d, $J_{\text{C,F}} = 11$ Hz) ; 133,2 ; 139,0 ; 158,3 (d, $J_{\text{C,F}} = 234$ Hz) (C) ; 173,1 ; 173,3 (C=O).

5-Chloro-3-(2,5-dihydro-2,5-dioxo-pyrrol-3-yl)-1H-indole (**18**)



18

Une solution de DDQ (377 mg; 1,66 mmol ; 1,05 équiv.) dans le dioxane (16 mL) est additionnée lentement à une solution du composé **9** (394 mg ; 1,58 mmol) dans le dioxane (16 mL). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant une nuit, puis filtré sur fritté. Le filtrat est évaporé sous pression réduite. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 7:3) ce qui permet d'obtenir le composé **18** (219 mg ; 0,89 mmol ; R = 56%) sous la forme d'un solide orange.

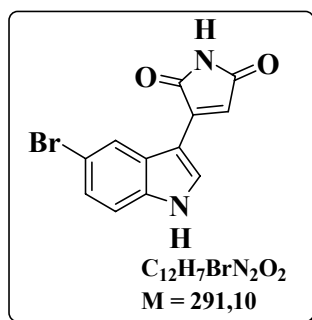
F = 254-264 °C

IR (KBr) : $\nu_{\text{C}=\text{C}} = 1605 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C}=\text{O}} = 1710, 1750 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3100\text{-}3350 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (FAB+) calculée pour $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{Cl} [\text{M}+\text{H}]^+$: 247,0274 ; trouvée : 247,0278.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 6,95 (1H, d, $J = 1,0$ Hz) ; 7,29 (1H, dd, $J_1 = 8,5$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz) ; 7,57 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 8,06 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) ; 8,43 (1H, d, $J = 3,0$ Hz) ; 10,82 (1H, s, NH) ; 12,18 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 114,0 ; 116,4 ; 119,6 ; 123,0 ; 132,1 (C tert) ; 105,1 ; 126,2 ; 126,6 ; 135,1 ; 138,7 (C quat) ; 173,0 ; 173,3 (C=O).

5-Bromo-3-(2,5-dihydro-2,5-dioxo-pyrrol-3-yl)-1H-indole (19)**19**

Une solution de DDQ (404 mg ; 1,78 mmol, 1,05 équiv.) dans le dioxane (17 mL) est additionnée lentement à une solution de composé **10** (499 mg ; 1,70 mmol) dans le dioxane (17 mL). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant une nuit, puis filtré sur fritté. Le filtrat est évaporé sous pression réduite. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 7:3) ce qui permet d'obtenir le composé **19** (476 mg ; 1,64 mmol ; R = 96%) sous la forme d'un solide orange.

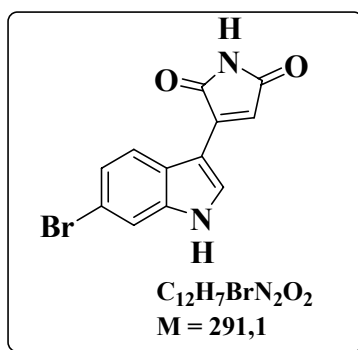
F = 268 °C

IR (KBr) : $\nu_{C=C} = 1595\text{ cm}^{-1}$; $\nu_{C=O} = 1705, 1750\text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3200, 3340\text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (FAB+) calculée pour $C_{12}H_8N_2O_2Br$ $[M+H]^+$: 290,9769 ; trouvée : 290,9766.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 6,95 (1H, d, $J = 1,0\text{ Hz}$) ; 7,41 (1H, dd, $J_1 = 8,5\text{ Hz}$, $J_2 = 2,0\text{ Hz}$) ; 7,52 (1H, d, $J = 8,5\text{ Hz}$) ; 8,19, (1H, d, $J = 2,0\text{ Hz}$) ; 8,41 (1H, d, $J = 2,5\text{ Hz}$) ; 10,82 (1H, s, NH) ; 12,19 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 114,4 ; 116,5 ; 122,5 ; 125,6 ; 131,9 (C tert) ; 104,9 ; 114,2 ; 127,2 ; 135,4 ; 138,7 (C quat) ; 173,0 ; 173,2 (C=O).

6-Bromo-3-(2,5-dihydro-2,5-dioxo-pyrrol-3-yl)-1H-indole (20)**20**

Une solution de DDQ (264 mg ; 1,16 mmol ; 1,05 équiv.) dans le dioxane (10 mL) est additionnée lentement à une solution de composé **11** (326 mg ; 1,11 mmol) dans le dioxane (10 mL). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant une nuit puis filtré sur verre fritté. Le filtrat est évaporé sous pression réduite. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 7:3) ce qui permet d'obtenir le composé **20** (291 mg ; 1,00 mmol ; R = 90%) sous la forme d'un solide orange.

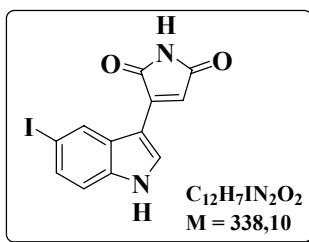
F = 278-282 °C

IR (KBr) : $\nu_{\text{C}=\text{C}} = 1600, 1620 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C}=\text{O}} = 1690, 1745 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3220-3320 \text{ cm}^{-1}$.

Masse (ESI+) m/z : 291, 293 $[\text{M}]^+$

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 6,88 (1H, s) ; 7,34 (1H, dd, $J_1 = 8,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 2,0 \text{ Hz}$) ; 7,75 (1H, d, $J = 2,0 \text{ Hz}$) ; 7,99 (1H, d, $J = 8,5 \text{ Hz}$) ; 8,40 (1H, s) ; 10,84 (1H, se, NH) ; 12,11 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 115,1 ; 116,3 ; 122,1 ; 124,0 ; 131,6 (CH) ; 105,4 ; 115,5 ; 124,6 ; 137,6 ; 138,8 (C) ; 172,9 ; 173,2 (C=O).

3-(2,5-Dihydro-2,5-dioxo-pyrrol-3-yl)-5-iodo-1H-indole (21)**21**

Une solution de DDQ (264 mg ; 1,16 mmol) dans le dioxane (9,4 mL) est additionnée lentement à une solution du composé **12** (377 mg ; 1,11 mmol) dans le dioxane (9,4 mL). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 5 heures avant d'être filtré sur verre fritté. Le filtrat est évaporé sous pression réduite. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 6:4) ce qui permet d'obtenir le composé **21** (348 mg ; 1,03 mmol ; R = 93%) sous la forme d'un solide orange.

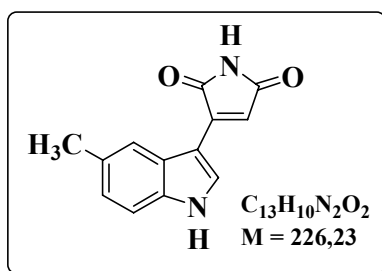
F = 232-235 °C

IR (KBr) : $\nu_{C=C} = 1616 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{C=O} = 1701, 1760 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3100-3620 \text{ cm}^{-1}$.

Masse (IC+) m/z : 339 $[M+Na]^+$

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 6,94 (1H, d, $J = 1,0 \text{ Hz}$) ; 7,40 (1H, d, $J = 8,5 \text{ Hz}$) ; 7,57 (1H, dd, $J_1 = 8,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,5 \text{ Hz}$) ; 8,33 (1H, d, $J = 1,5 \text{ Hz}$) ; 8,36 (1H, d, $J = 3,0 \text{ Hz}$) ; 10,82 (1H, se, NH) ; 12,17 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 85,8 ; 104,6 ; 127,9 ; 135,8 ; 138,7 (C) ; 114,8 ; 116,4 ; 128,4 ; 131,2 ; 131,4 (CH arom) ; 173,0 ; 173,2 (C=O).

3-(2,5-dihydro-2,5-dioxo-pyrrol-3-yl)-5-méthyl-1H-indole (22)**22**

Une solution de DDQ (602 mg ; 2,65 mmol ; 1,1 équiv.) dans le dioxane (24 mL) est additionnée lentement à une solution de composé 13 (550 mg ; 2,41 mmol) dans le dioxane (24 mL). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant une nuit puis filtré sur verre fritté. Le filtrat est évaporé sous pression réduite. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 7:3) ce qui permet d'obtenir le composé 22 (434 mg ; 1,92 mmol ; R = 80%) sous la forme d'un solide orange.

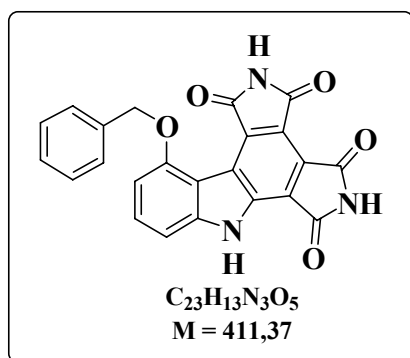
F = 210-230 °C

IR (KBr) : $\nu_{C=C} = 1610\text{ cm}^{-1}$; $\nu_{C=O} = 1700, 1750\text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3080\text{-}3450\text{ cm}^{-1}$.

Masse (IC+) m/z : 227 $[M+H]^+$

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,48 (3H, s, CH₃) ; 6,82 (1H, s) ; 7,11 (1H, dd, $J_1 = 8,5\text{ Hz}$, $J_2 = 1,0\text{ Hz}$) ; 7,43 (1H, d, $J = 8,5\text{ Hz}$) ; 7,81 (1H, s) ; 8,34 (1H, d, $J = 3,0\text{ Hz}$) ; 10,76 (1H, se, NH) ; 11,94 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 21,2 (CH₃) ; 112,2 ; 114,8 ; 120,1 ; 124,4 ; 130,8 (CH) ; 104,9 ; 125,8 ; 130,4 ; 134,9 ; 139,5 (C) ; 173,2 ; 173,4 (C=O).

11-benzyloxy-1,3,4,6-tétrahydro-2*H*,5*H*,7*H*-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (23)**23**

Un mélange de composé 14 (292 mg ; 0,92 mmol) et de maléimide (94 mg ; 0,96 mmol ; 1,05 équiv.) dans le *p*-xylène (24 mL) est chauffé à reflux pendant 3 jours. Après retour à température ambiante, le mélange est filtré et le solide est lavé au *p*-xylène puis séché. Le solide jaune-orangé obtenu (147 mg contenant 31% en masse de produit de Diels-Alder, d'après de spectre de RMN 1H) est chauffé à reflux dans le dioxane (4 mL) pendant 2 jours en présence de DDQ (109 mg ; 0,48 mmol). Après retour à température ambiante, le mélange réactionnel est filtré sur verre fritté. Le solide ainsi récupéré est lavé au dioxane, à l'eau et à l'acétate d'éthyle, ce qui permet d'obtenir le composé 23 (11,1 mg ; 0,027 mmol ; R = 3% sur les deux étapes) sous la forme d'un solide orange.

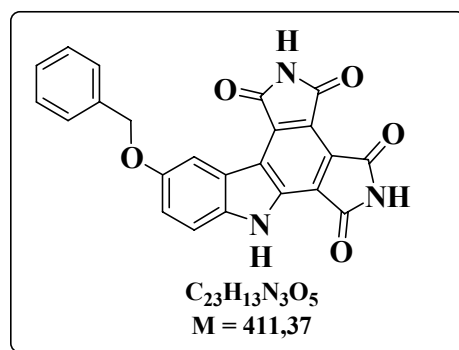
F >300°C

IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1724, 1760 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3203, 3326 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (ESI+) calculée pour $C_{23}H_{13}N_3NaO_5$ $[M+Na]^+$: 434,0753 ; trouvée : 434,0757.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 5,50 (2H, s, CH₂) ; 6,86 (1H, d, $J = 8 \text{ Hz}$) ; 7,29-7,42 (4H, m) ; 7,55 (1H, t, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 7,66 (2H, d, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 11,33 (1H, s, NH) ; 11,54 (1H, se, NH) ; 12,76 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 69,2 (CH₂) ; 104,3 ; 104,9 ; 127,4 (2C) ; 127,5 ; 128,3 (2C) ; 131,3 (CH arom) ; 110,3 ; 117,4 ; 121,1 ; 121,9 ; 125,1 ; 130,9 ; 137,1 ; 137,5 ; 146,2 ; 155,3 (C arom) ; 165,9 ; 166,3 ; 166,7 ; 168,6 (C=O).

10-Benzyloxy-1,3,4,6-tétrahydro-2*H*,5*H*,7*H*-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (24)**24**

Un mélange de composé **15** (190 mg ; 0,597 mmol) et de maléimide (64 mg ; 0,66 mmol ; 1,1 équiv.) dans le *p*-xylène (16 mL) est chauffé à reflux pendant 48 heures. Après retour à température ambiante, le mélange est filtré et le solide est lavé au *p*-xylène puis séché. Le solide obtenu (228 mg des 233 mg isolés) est chauffé à reflux dans le dioxane (10 mL) pendant 3 jours en présence de DDQ (274 mg ; 1,21 mmol). Après retour à température ambiante, de l'eau et de l'acétate d'éthyle sont ajoutés. Le solide à l'interface est filtré sur fritté, lavé à l'eau et à l'acétate d'éthyle, ce qui permet d'obtenir le composé **24** (172,5 mg ; 0,419 mmol ; R = 72% sur les deux étapes) sous la forme d'un solide rouge.

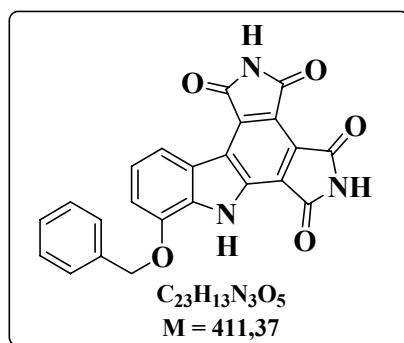
F > 300 °C

IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1725, 1755, 1780 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3150\text{-}3500 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (FAB+) calculée pour $C_{23}H_{14}N_3O_5$ $[M+H]^+$: 412,0933 ; trouvée : 412,0933.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 5,24 (2H, s) ; 7,38 (1H, m) ; 7,42 (1H, dd, $J_1 = 9,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 2,5 \text{ Hz}$) ; 7,46 (2H, m) ; 7,60 (2H, m) ; 7,67 (1H, d, $J = 9,0 \text{ Hz}$) ; 8,60 (1H, d, $J = 2,5 \text{ Hz}$) ; 11,54 (1H, se, NH) ; 11,56 (1H, se, NH) ; 12,58 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) : 69,9 (CH₂) ; 108,6 ; 113,6 ; 120,0 ; 127,8 ; 127,9 (2C) ; 128,4 (2C) (C tert arom.) ; 117,9 ; 119,0 ; 119,8 ; 124,1 ; 125,5 ; 131,5 ; 136,9 ; 137,0 ; 139,0 ; 153,5 (C quat arom.) ; 166,4 ; 166,5 ; 168,6 ; 169,3 (C=O).

8-Benzyloxy-1,3,4,6-tétrahydro-2*H*,5*H*,7*H*-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (25)**25**

Un mélange de composé **16** (86,5 mg ; 0,272 mmol) et de maléimide (28,0 mg ; 0,288 mmol ; 1,05 équiv.) dans le *p*-xylène (7 mL) est chauffé à reflux pendant 3 jours. Après retour à température ambiante, le mélange est filtré et le solide est lavé au *p*-xylène puis séché. Le solide jaune-orangé obtenu (92,6 mg des 95,4 mg isolés) est chauffé à reflux dans le dioxane (4 mL) pendant 2 jours en présence de DDQ (104 mg ; 0,458 mmol). Après retour à température ambiante, le mélange réactionnel est filtré sur verre fritté. Le solide ainsi récupéré est lavé au dioxane, à l'eau et à l'acétate d'éthyle ce qui permet d'obtenir le composé **25** (64,7 mg ; 0,157 mmol ; R = 60% sur les deux étapes) sous la forme d'un solide orange.

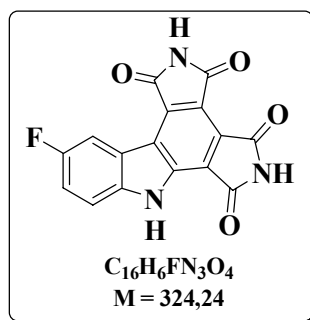
F = 297 °C

IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1720, 1770 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3100\text{-}3620 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (ESI+) m/z calculée pour $C_{23}H_{13}N_3NaO_5$ $[M+Na]^+$ 434,0753, trouvée 434,0744.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 5,42 (2H, s) ; 7,32-7,41 (3H, m) ; 7,44-7,49 (2H, m) ; 7,68-7,72 (2H, m) ; 8,62 (1H, dd, $J_1 = 7,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 2,0 \text{ Hz}$) ; 11,56 (1H, s, NH) ; 11,60 (1H, s, NH) ; 12,39 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 69,8 (CH₂) ; 112,1 ; 117,7 ; 122,4 ; 127,9 ; 128,0 (2C) ; 128,4 (2C) (CH arom) ; 118,7 ; 120,0 ; 121,2 ; 125,0 ; 126,1 ; 131,7 ; 134,4 ; 136,9 ; 137,0 ; 145,1 (C arom) ; 166,3 (2C) ; 168,1 ; 169,1 (C=O).

10-Fluoro-1,3,4,6-tétrahydro-2*H*,5*H*,7*H*-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (26)**26**

Un mélange de composé **17** (347 mg ; 1,51 mmol) et de maléimide (146 mg ; 1,51 mmol) dans le *p*-xylène (25 mL) est chauffé à reflux pendant 3 jours. Après retour à température ambiante, le mélange est filtré et le solide est lavé au *p*-xylène puis séché. Le solide orange obtenu (440 mg des 443 mg isolés) est chauffé à reflux dans le dioxane (24 mL) pendant 3 jours en présence de DDQ (671 mg ; 2,96 mmol). Après retour à température ambiante, de l'eau et de l'acétate d'éthyle sont ajoutés. Le solide à l'interface est filtré sur fritté, lavé à l'eau et à l'acétate d'éthyle, ce qui permet de récupérer le composé **26** (464 mg contenant 11,4% en masse de dioxane (mesuré par RMN) ; 1,27 mmol, R = 85% sur les deux étapes) sous la forme d'un solide orange.

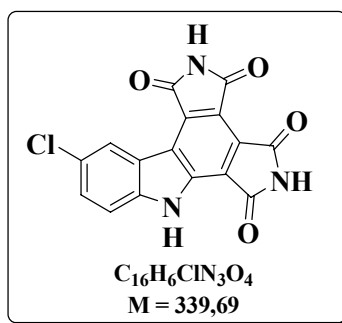
F > 300 °C

IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1710, 1780 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3100\text{-}3350 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (FAB+) calculée pour $C_{16}H_7N_3O_4F$ $[M+H]^+$: 324,0421 ; trouvée : 324,0424.

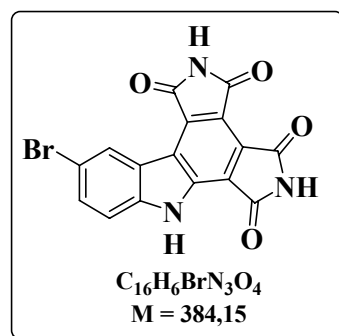
RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 7,57 (1H, dt, $J_1 = 9,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 2,5 \text{ Hz}$) ; 7,75 (1H, dd, $J_1 = 9,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 4,5 \text{ Hz}$) ; 8,63 (1H, dd, $J_1 = 9,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 2,5 \text{ Hz}$) ; 10,61 (2H, se, 2 NH) ; 12,77 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) : 110,2 (d, $J_{C,F} = 25 \text{ Hz}$) ; 114,2 (d, $J_{C,F} = 9 \text{ Hz}$) ; 118,0 (d, $J_{C,F} = 26 \text{ Hz}$) (CH arom) ; 118,4 ; 119,4 ; 119,6 (d, $J_{C,F} = 11 \text{ Hz}$) ; 123,5 (d, $J_{C,F} = 4,5 \text{ Hz}$) ; 126,2 ; 131,9 137,3 ; 140,5 ; 157,2 (d, $J_{C,F} = 236 \text{ Hz}$) (C arom) ; 166,2 ; 166,3 ; 168,4 ; 169,2 (C=O).

10-Chloro-1,3,4,6-tétrahydro-2*H*,5*H*,7*H*-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (27)**27**

Un mélange de composé **18** (158 mg ; 0,64 mmol) et de maléimide (62 mg ; 0,64 mmol) dans le *p*-xylène (11 mL) est porté à reflux pendant 3 jours. Après retour à température ambiante, le mélange est filtré et le solide est lavé au *p*-xylène puis séché. Le solide jaune obtenu (179 mg des 180 mg isolés) est chauffé à reflux dans le dioxane (9 mL) pendant 3 jours en présence de DDQ (259 mg ; 1,14 mmol). Après retour à température ambiante, de l'eau et de l'acétate d'éthyle sont ajoutés. Le solide à l'interface est filtré sur fritté, lavé à l'eau et à l'acétate d'éthyle, ce qui permet d'obtenir le composé **27** (104 mg ; 0,306 mmol ; R = 48% sur les deux étapes) sous la forme d'un solide orange.

F > 300 °C

IR (KBr) : $\nu_{C=C} = 1600\text{ cm}^{-1}$, $\nu_{C=O} = 1710, 1720, 1760\text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3120\text{--}3380\text{ cm}^{-1}$.Masse exacte (FAB+) calculée pour $C_{16}H_7N_3O_4Cl\ [M+H]^+$: 340,0125 ; trouvée : 340,0121.RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 7,75 (1H, dd, $J_1 = 9,0\text{ Hz}$, $J_2 = 2,0\text{ Hz}$) ; 7,81 (1H, d, $J = 9,0\text{ Hz}$) ; 9,01 (1H, d, $J = 2,0\text{ Hz}$) ; 11,64 (1H, s, NH) ; 11,69 (1H, s, NH) ; 12,94 (1H, s, NH).**10-Bromo-1,3,4,6-tétrahydro-2*H*,5*H*,7*H*-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (28)****28**

Un mélange du composé **19** (150 mg ; 0,515 mmol) et de maléimide (55 mg ; 0,567 mmol ; 1,1 équiv.) dans le *p*-xylène (8,8 mL) est porté à reflux pendant 60 heures. Après retour à température ambiante, le mélange est filtré et le solide est lavé au *p*-xylène puis séché. Le solide obtenu (177 mg des 181 mg isolés) est chauffé à reflux dans le dioxane (8 mL) pendant 3 jours en présence de DDQ (228 mg ; 1,00 mmol). Après retour à température ambiante, de l'eau et de l'acétate d'éthyle sont ajoutés. Le solide à l'interface est filtré sur fritté, lavé à l'eau et à l'acétate d'éthyle, ce qui permet d'obtenir le composé **28** (125 mg ; 0,325 mmol ; R = 65% sur les deux étapes) sous la forme d'un solide orange.

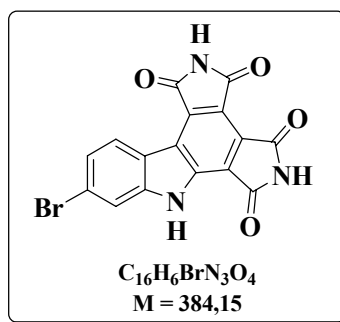
F > 300 °C

IR (KBr) : $\nu_{C=C}$ = 1600 cm^{-1} ; $\nu_{C=O}$ = 1710, 1720, 1760 cm^{-1} ; ν_{NH} = 3150-3350 cm^{-1} .

Masse exacte (FAB+) calculée pour $\text{C}_{16}\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_4\text{Br}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 383,9620 ; trouvée : 383,9619.

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 7,75 (1H, d, J = 8,5 Hz) ; 7,86 (1H, d, J = 8,5 Hz) ; 9,15 (1H, s) ; 11,64 (1H, s, NH) ; 11,69 (1H, s, NH) ; 12,93 (1H, s, NH).

9-Bromo-1,3,4,6-tétrahydro-2*H*,5*H*,7*H*-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (29**)**



29

Un mélange de composé **20** (282 mg ; 0,97 mmol) et de maléimide (98 mg ; 1,01 mmol) dans le *p*-xylène (25 mL) est chauffé à reflux pendant 3 jours. Après retour à température ambiante, le mélange est filtré et le solide est lavé au *p*-xylène puis séché. Le solide jaune obtenu (332 mg) est chauffé à reflux dans le dioxane (15 mL) pendant 3 jours en présence de DDQ (398 mg ; 1,75 mmol). Après retour à température ambiante, le mélange réactionnel est filtré sur verre fritté. Le solide ainsi récupéré est lavé au dioxane, à l'eau et à l'acétate d'éthyle, ce qui permet d'obtenir le composé **29** (297 mg ; 0,77 mmol ; R = 80% sur les deux étapes) sous la forme d'un solide jaune.

F > 300 °C

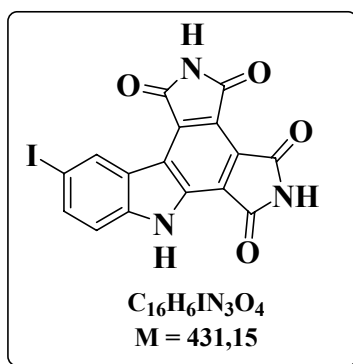
IR (KBr) : $\nu_{\text{C}=\text{C}} = 1600 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C}=\text{O}} = 1720, 1760 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3100\text{-}3380 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (ESI+) m/z calculée pour $\text{C}_{16}\text{H}_6\text{BrN}_3\text{NaO}_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 405,9439, trouvée 405,9424.

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 7,62 (1H, dd, $J_1 = 8,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,5 \text{ Hz}$) ; 7,91 (1H, d, $J = 1,5 \text{ Hz}$) ; 8,88 (1H, d, $J = 8,5 \text{ Hz}$) ; 11,63 (1H, s, NH) ; 11,65 (1H, s, NH) ; 12,83 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 115,4 ; 124,6 ; 127,0 (CH arom) ; 118,4 ; 118,5 ; 120,1 ; 122,9 ; 123,5 ; 126,2 ; 131,7 ; 136,9 ; 144,8 (C arom) ; 166,2 ; 166,3 ; 168,4 ; 169,1 (C=O).

10-Iodo-1,3,4,6-tétrahydro-1,3,4,6-tétraoxo-7H-dipyrrolo[3,4-a:3,4-c]carbazole (**30**)



30

Un mélange du composé **21** (222 mg ; 0,657 mmol) et de maléimide (67 mg ; 0,690 mmol ; 1,05 équiv.) dans le *p*-xylène (11 mL) est porté à reflux pendant 20 heures. Après retour à température ambiante, le mélange est filtré et le solide est lavé au *p*-xylène puis séché. Le solide obtenu (50,0 mg des 243 mg obtenus) est chauffé à 80°C dans le dioxane (13,8 mL) en présence de TFA (1,02 mL ; 13,2 mmol) pendant 48 heures. Le milieu réactionnel est évaporé sous pression réduite puis le résidu est repris à l'eau, filtré, lavé à l'eau et séché, ce qui permet d'obtenir le composé **30** (35,9 mg ; 0,083 mmol ; R = 62%) sous la forme d'un solide orange.

F > 290 °C

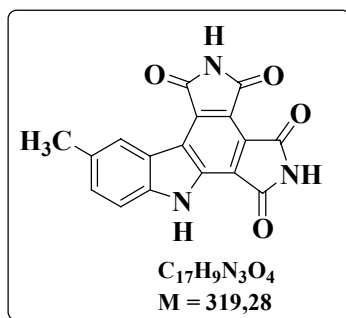
IR(KBr) : $\nu_{\text{C}=\text{O}} = 1670\text{-}1820 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3110\text{-}3430 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (ESI+) calculée pour $\text{C}_{16}\text{H}_6\text{IN}_3\text{NaO}_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 453,9301 ; trouvée : 453,9283.

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 7,63 (1H, d, $J = 8,5 \text{ Hz}$) ; 7,99 (1H, dd, $J_1 = 8,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,5 \text{ Hz}$) ; 9,36 (1H, d, $J = 1,5 \text{ Hz}$) ; 11,63 (1H, s, NH) ; 11,68 (1H, s, NH) ; 12,90 (1H, s, NH).

En raison de son insolubilité dans le DMSO, le spectre de RMN ^{13}C du composé **30** n'a pu être enregistré.

10-méthyl-1,3,4,6-tétrahydro-1,3,4,6-tétraoxo-2*H*,5*H*,7*H*-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole (31**)**



31

Un mélange de composé **22** (361 mg ; 1,60 mmol) et de maléimide (163 mg ; 1,68 mmol ; 1,05 équiv.) dans le *p*-xylène (27,5 mL) est chauffé à reflux pendant 36 heures. Du maléimide est encore ajouté (155 mg, 1 équiv.) puis le mélange est de nouveau porté à reflux 48 heures. Après retour à température ambiante, le mélange est filtré et le solide est lavé au *p*-xylène puis séché. Le solide orange obtenu (100 mg des 473 mg obtenus) est chauffé pendant 18 heures à reflux dans le dioxane (19 mL) en présence de TFA (309 μL). Après retour à température ambiante le mélange est évaporé puis filtré sur verre fritté. Le solide est lavé à l'eau et à l'acétate d'éthyle puis séché. Le solide orange ainsi obtenu (53 mg des 54,4 mg obtenus) est de nouveau chauffé à reflux pendant 48 h dans dioxane (9,5 mL) en présence de TFA (154 μL). Après retour à température ambiante le mélange est évaporé puis filtré sur verre fritté. Le solide est lavé à l'eau et à l'acétate d'éthyle puis séché. Le composé **31** est obtenu sous la forme d'un solide orange (22,9 mg ; 0,072 mmol ; R = 22%).

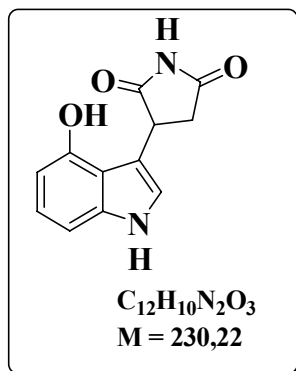
F > 300 °C

IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}} = 1710, 1720, 1750, 1770 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3100\text{-}3350 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (ESI+) calculée pour $\text{C}_{17}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 320,0671 ; trouvée : 320,0665.

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 2,52 (3H, s) ; 7,45 (1H, d, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 7,57 (1H, d, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 8,66 (1H, s) ; 11,48 (1H, s, NH) ; 11,50 (1H, s, NH) ; 12,49 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 21,2 (CH_3) ; 112,4 ; 125,0 ; 131,3 (CH arom) ; 117,6 ; 119,2 ; 119,4 ; 123,9 ; 125,4 ; 130,4 ; 131,2 ; 136,7 ; 142,2 (C arom) ; 166,3 ; 166,4 ; 168,6 ; 169,1 (C=O).

3-(2,5-dioxopyrrolidin-3-yl)- 4-hydroxy-1*H*-indole (32)**32**

A une solution du composé 5 (400 mg ; 1,25 mmol) dans le méthanol anhydre (80 mL) est ajouté du charbon palladié à 10% (133 mg). Après avoir purgé sous vide pendant 20 minutes, le milieu réactionnel est placé sous atmosphère d' H_2 (1 atm) puis agité pendant 23 heures. Après filtration sur Célite et évaporation du filtrat, le composé 32 est obtenu sous la forme de solide marron clair (278 mg ; 1,21 mmol ; R = 97%).

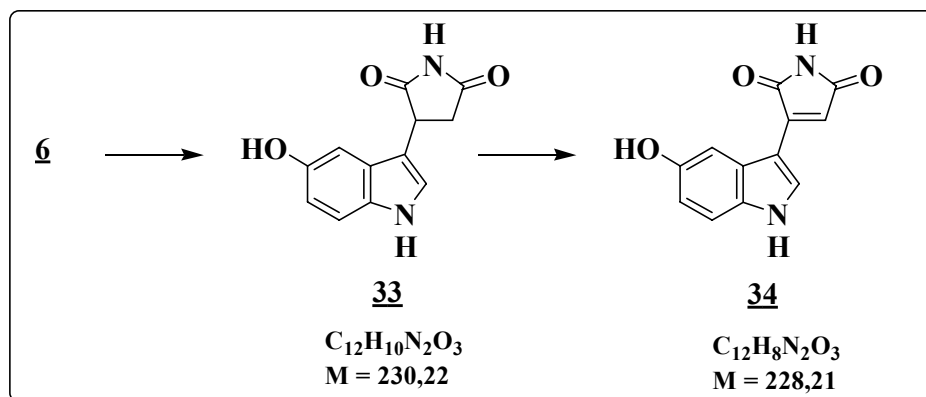
F = 285 °C (décomposition)

IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1700, 1770\text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3100\text{-}3550\text{ cm}^{-1}$.

Masse (ESI+) m/z : 253 $[M+Na]^+$

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,76 (1H, dd, $J_1 = 17,5\text{ Hz}$, $J_2 = 6,0\text{ Hz}$) ; 3,02 (1H, dd, $J_1 = 17,5\text{ Hz}$, $J_2 = 9,5\text{ Hz}$) ; 4,27 (1H, dd, $J_1 = 9,5\text{ Hz}$, $J_2 = 6,0\text{ Hz}$) ; 6,32 (1H, d, $J = 7,0\text{ Hz}$) ; 6,83 (1H, d, $J = 7,5\text{ Hz}$) ; 6,87 (1H, t, $J = 7,5\text{ Hz}$) ; 7,12 (1H, d, $J = 2,0\text{ Hz}$) ; 9,57 (1H, s, OH) ; 10,83 (1H, se, NH) ; 11,07 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 39,4 (CH_2) ; 40,1 (CH) ; 102,8 ; 103,0 ; 122,3 ; 123,3 (CH arom) ; 110,4 ; 115,2 ; 139,0 ; 150,8 (C arom) ; 178,6 ; 180,7 (C=O).

3-(2,5-dioxopyrrolidin-3-yl)-5-hydroxy-1*H*-indole (33)**3-(2,5-dihydro-2,5-dioxo-pyrrol-3-yl)-5-hydroxy-1*H*-indole (34)**

A une solution du composé 6 (450 mg ; 1,40 mmol) dans le méthanol anhydre (90 mL) est ajouté du charbon palladié à 10% (135 mg). Après avoir purgé sous vide pendant 20 minutes, le milieu réactionnel est placé sous atmosphère d' H_2 (1 atm) pendant 3 heures. Après filtration sur Célite et évaporation du filtrat, le composé 33 est obtenu sous forme d'une huile grise.

Une solution de DDQ (318 mg ; 1,40 mmol) dans le dioxane (15 mL) est additionnée lentement à une solution du composé 33 (323 mg ; 1,40 mmol) dans le dioxane (15 mL). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante une nuit, puis filtré sur fritté. Le filtrat est évaporé sous pression réduite. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 1:1) ce qui permet d'obtenir le composé 34 (166 mg ; 0,73 mmol ; R = 52% sur les 2 étapes) sous la forme d'un solide orange.

Composé 33 :

IR (film, NaCl) : $\nu_{C=O} = 1700\text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH,OH} = 3000\text{-}3700\text{ cm}^{-1}$.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,75 (1H, dd, $J_1 = 18,0\text{ Hz}$, $J_2 = 5,0\text{ Hz}$) ; 3,18 (1H, dd, $J_1 = 18,0\text{ Hz}$, $J_2 = 9,5\text{ Hz}$) ; 4,26 (1H, dd, $J_1 = 9,5\text{ Hz}$, $J_2 = 5,0\text{ Hz}$) ; 6,65 (1H, dd, $J_1 = 8,5\text{ Hz}$, $J_2 = 2,0\text{ Hz}$) ; 6,75 (1H, d, $J = 2,0\text{ Hz}$) ; 7,20 (1H, d, $J = 8,5\text{ Hz}$) ; 7,24 (1H, d, $J = 2,5\text{ Hz}$) ; 8,74 (1H, s, OH) ; 10,74 (1H, s, NH) ; 11,34 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 37,2 (CH_2) ; 39,1 (CH) ; 102,3 ; 111,7 ; 112,1 ; 123,9 (C tert arom.) ; 109,9 ; 126,4 ; 131,0 ; 150,4 (C quat arom.) ; 178,1 ; 180,0 (C=O).

Composé 34 :

F = 292-298 °C

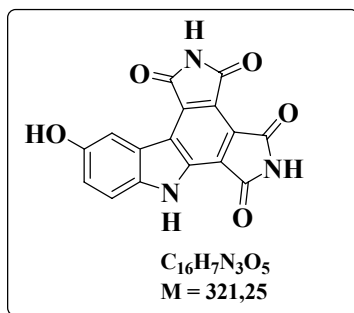
IR (KBr) : $\nu_{C=C} = 1610 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{C=O} = 1690, 1760 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH,OH} = 3260, 3370, 3430 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (FAB+) calculée pour $C_{12}H_9N_2O_3$ $[M+H]^+$: 229,0613 ; trouvée : 229,0609.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 6,47 (1H, s) ; 6,80 (1H, dd, $J_1 = 8,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 2,0 \text{ Hz}$) ; 7,20 (1H, d, $J = 2,0 \text{ Hz}$) ; 7,36 (1H, d, $J = 8,5 \text{ Hz}$) ; 8,29 (1H, d, $J = 3,0 \text{ Hz}$) ; 9,09 (1H, s, OH) ; 10,74 (1H, s, NH) ; 11,85 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 104,7 ; 112,7 ; 113,1 ; 113,5 ; 131,1 (C tert) ; 104,6 ; 126,7 ; 130,7 ; 139,9 ; 152,8 (C quat) ; 173,1 ; 173,3 (C=O).

1,3,4,6-tétrahydro-10-hydroxy-1,3,4,6-tétraoxo-7H-dipyrrolo[3,4-a:3,4-c]carbazole (**35**)



35

Un mélange de composé **34** (912 mg ; 4,00 mmol) et de maléimide (465 mg ; 4,79 mmol) dans le *p*-xylène (68 mL) est chauffé à reflux pendant 3 jours. Après retour à température ambiante, le mélange est filtré et le solide est lavé au *p*-xylène puis séché. Le solide orange obtenu (1,20 g) est chauffé à reflux dans le dioxane (64 mL) pendant 3 jours en présence de DDQ (1,76 g ; 7,75 mmol). Après retour à température ambiante, de l'eau et de l'acétate d'éthyle sont ajoutés. Le solide à l'interface est filtré sur fritté, lavé à l'eau et à l'acétate d'éthyle, ce qui permet d'obtenir le composé **35** (950 mg ; 2,96 mmol ; R = 74% sur les deux étapes) sous la forme d'un solide marron.

F > 300 °C

IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1715, 1770 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH,OH} = 3100-3650 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (FAB+) calculée pour $C_{16}H_8N_3O_5$ $[M+H]^+$: 322,0464 ; trouvée : 322,0460.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 7,21 (1H, dd, $J_1 = 2,5$ Hz, $J_2 = 9,0$ Hz) ; 7,63 (1H, d, $J = 9,0$ Hz) ; 8,45 (1H, d, $J = 2,5$ Hz) ; 9,52 (1H, se, OH) ; 11,49 (1H, s, NH) ; 11,52 (1H, s, NH) ; 12,51 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 109,7 ; 113,4 ; 120,0 (C tert) ; 117,7 ; 118,7 ; 120,2 ; 124,2 ; 125,4 ; 131,6 ; 137,1 ; 138,1 ; 152,5 (C quat arom.) ; 166,5 ; 166,6 ; 168,8 ; 169,4 (C=O).

Mode opératoire pour la préparation des composés (36d) à (44d) :

Réaction de Michaël :

Un mélange d'indole substitué commercial (250 mg) et de maléimide (3 équiv.) dans l'acide acétique glacial (5 mL), dans un tube scellé (tube de 10 mL SEM), est chauffé à 190 °C dans un appareil micro-onde CEM Explorer (200W, pas de refroidissement). La réaction a été suivie par HPLC (colonne XTerra MSC18 2,5 μm ; solvant A : 0,1% TFA dans l'eau, solvant B : 0,1% TFA dans l'acétonitrile ; gradient d'élution : 2% à 100% de B en 10 min puis 2 min à 100 % B et rééquilibration, total 13 min ; débit = 0,8 mL/min ; détection UV à 210 nm.) jusqu'à disparition des indoles de départ. Pour plusieurs composés, l'addition de maléimide supplémentaire a été nécessaire pour une disparition totale du produit de départ. Le milieu réactionnel est ensuite versé dans l'eau (150 mL) puis le mélange est purifié à l'aide de cartouches SPE Oasis HLB Waters (6g) (élution : eau, eau/acétonitrile 8:2 puis acétonitrile 100% ; à partir du 5-méthoxycarbonylindole, le composé obtenu a été purifié avec un gradient d'élution eau/acétonitrile réalisé sur SPE Flash master). Après évaporation, le solide obtenu est repris à l'éther puis filtré et séché. Le composé obtenu est utilisé pour l'étape suivante d'oxydation.

Oxydation du succinimide en maléimide :

L'étape d'oxydation a été réalisée en parallèle à l'aide d'un *Büchi Syncore reactor* (tubes de 30 mL). Le composé obtenu est dissous dans le dioxane (5 mL) puis une solution 0,2 M de DDQ dans le dioxane est ajoutée (1 équiv.). Le mélange est agité à température ambiante pendant 1 heure avant d'être filtré par centrifugation sur tube de filtration Whatman. Le solide est lavé au dioxane et le filtrat est lyophilisé. Le solide obtenu est utilisé directement pour l'étape suivante de cycloaddition.

Réaction de Diels-Alder :

Un mélange du composé obtenu dans une solution 1,0 M de maléimide dans le dioxane (3,5 mL), dans un tube scellé (tube de 10mL SEM), est chauffé à 190 °C dans un appareil micro-onde CEM Explorer (200W, pas de refroidissement). Le solvant est évaporé puis le résidu est repris à l'eau et filtré par centrifugation sur tube de filtration Whatman. Le solide obtenu est repris au dioxane et lyophilisé. Le

composé obtenu est utilisé directement pour l'étape suivante d'aromatisation.

*Oxydation pour l'obtention des composés **37d** et **44d** :*

L'étape d'oxydation a été réalisée à l'aide d'un *Büchi Syncore reactor* (tubes de 30 mL). Le composé obtenu est dissous dans le dioxane (10 mL) puis du DDQ (2,1 équiv.) est ajouté par petites portions. Le mélange est agité à 80 °C pendant 55 heures. Le mélange est concentré, repris à l'eau, filtré sur verre fritté puis lavé à l'eau et à l'acétonitrile.

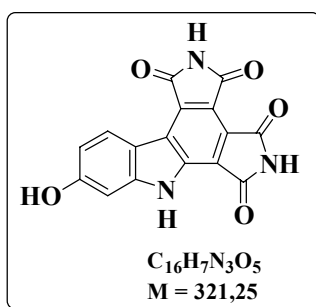
*Oxydation pour l'obtention des composés **36d**, **38d** - **40d**, **42d** et **43d** :*

Une suspension du composé obtenu 0,06 M dans le dioxane en présence de DDQ (2,1 équiv.) est chauffée à reflux pendant 60 heures (composés **36d**, **38d** - **40d** et **43d**). Pour le composé **42d**, la réaction a été effectuée à température ambiante pendant 24 heures. Le solvant est évaporé puis le résidu est repris à l'eau, filtré sur verre fritté puis lavé à l'eau et à l'acétate d'éthyle.

*Oxydation pour l'obtention du composé **41d** :*

Une suspension du composé obtenu 0,016 M dans le dioxane en présence de 13 équivalent de TFA est chauffée à 80°C pendant 3 jours. Le solvant est évaporé puis le résidu est repris à l'eau, filtré sur verre fritté puis lavé à l'eau et à l'acétate d'éthyle.

9-Hydroxy-1,3,4,6-tétrahydro-2H,5H,7H-dipyrrolo[3,4-a:3,4-c]carbazole-1,3,4,6-tétraone (36d**)**



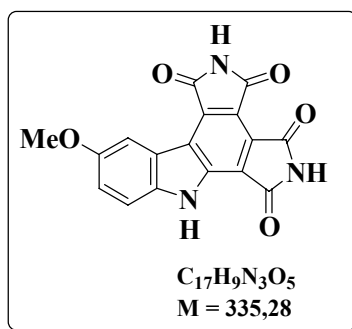
36d

F > 300°C

IR (KBr) : $\nu_{C=C} = 1604 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{C=O} = 1650-1840 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3100-3650 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (ESI+) calculée pour $C_{16}H_7N_3NaO_5$ $[M+Na]^+$: 344,0283 ; trouvée : 344,0288.

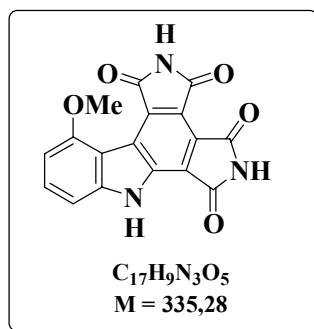
RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6 + D_2O) : 6,91 (1H, dd, $J_1 = 8,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 2,0 \text{ Hz}$) ; 7,13 (1H, d, $J = 2,0 \text{ Hz}$) ; 8,77 (1H, d, $J = 8,5 \text{ Hz}$).

10-Méthoxy-1,3,4,6-tétrahydro-2*H*,5*H*,7*H*-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (37d)**37d**

IR (ATR) : $\nu_{C=O} = 1709, 1775 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3174, 3367 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (ESI+) m/z calculée pour $C_{17}H_9N_3NaO_5$ $[M+Na]^+$ 358,0440 ; trouvée 358,0474

RMN 1H (200 MHz, DMSO- d_6) : 3,90 (3H, s) ; 7,28 (1H, dd) ; 7,61 (1H, d) ; 8,48 (1H, d) ; 11,5 (2H, 2s, NH) ; 12,5 (1H, s, NH).

11-Méthoxy-1,3,4,6-tétrahydro-2*H*,5*H*,7*H*-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (38d)**38d**

F > 300°C

IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1717, 1771 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3344, 3100\text{-}3400 \text{ cm}^{-1}$.

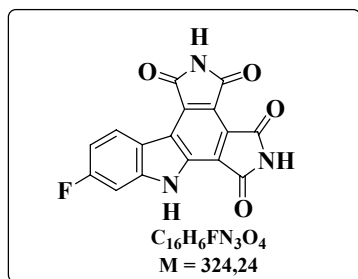
Masse exacte (ESI+) calculée pour $C_{17}H_9N_3NaO_5$ $[M+Na]^+$: 358,0440 ; trouvée : 358,0439.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 4,04 (3H, s, CH₃) ; 6,91 (1H, d, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 7,37 (1H, d, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 7,64 (1H, t, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 11,31 (1H, s, NH) ; 11,51 (1H, s, NH) ; 12,73 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 55,2 (CH₃) ; 102,8 ; 104,8 ; 131,6 (CH arom) ; 110,0 ; 117,3 ; 121,1

; 121,8 ; 124,9 ; 130,7 ; 137,0 ; 146,0 ; 156,5 (C arom) ; 165,8 ; 166,2 ; 166,6 ; 168,6 (C=O).

9-Fluoro-1,3,4,6-tétrahydro-2*H*,5*H*,7*H*-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (39d)



39d

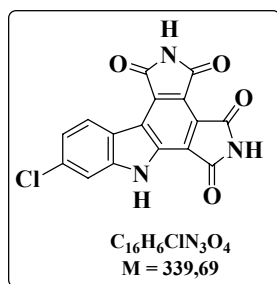
F > 300°C

IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1700, 1735, 1780 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3100-3600 \text{ cm}^{-1}$.

Masse Exacte (ESI+) calculée pour $C_{16}H_7FN_3O_4 [M+H]^+$: 324,0421 ; trouvée 324,0424

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 7,31 (1H, pdt, $J_1 = 9,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 2,0 \text{ Hz}$) ; 7,46 (1H, dd, $J_1 = 9,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 2,0 \text{ Hz}$) ; 8,98 (1H, dd, $J_1 = 9,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 5,5 \text{ Hz}$) ; 11,60 (1H, s, NH) ; 11,62 (1H, s, NH) ; 12,82 (1H, s, NH).

9-Chloro-1,3,4,6-tétrahydro-2*H*,5*H*,7*H*-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (40d)



40d

F > 300°C

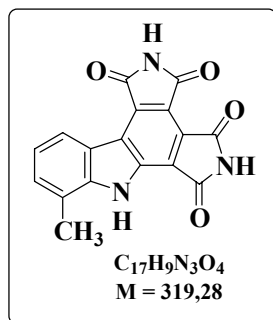
IR (KBr) : $\nu_{C=C} = 1604 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{C=O} = 1723, 1761 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3110-3390 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (ESI+) calculée pour $C_{16}H_6ClN_3NaO_4 [M+Na]^+$: 361,9945 ; trouvée : 361,9964.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 7,45 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,70 (1H, s) ; 8,89 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 11,61 (1H, s, NH) ; 11,63 (1H, s, NH) ; 12,77 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 112,3 ; 121,9 ; 126,8 (CH arom) ; 118,2 ; 118,3 ; 120,0 ; 123,4 ; 126,0 ; 131,5 ; 134,3 ; 137,0 ; 144,5 (C arom) ; 166,2 (2C) ; 168,4 ; 169,0 (C=O).

8-Méthyl-1,3,4,6-tétrahydro-2H,5H,7H-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (41d)



41d

F > 300°C

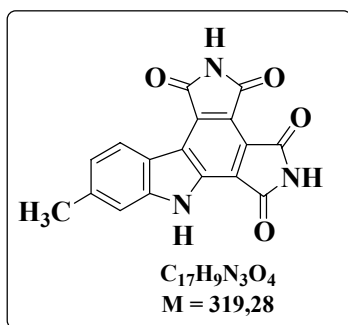
IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}} = 1715, 1770 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3254, 3307 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (ESI+) calculée pour $\text{C}_{17}\text{H}_9\text{N}_3\text{NaO}_4 [\text{M}+\text{Na}]^+$: 342,0491 ; trouvée : 342,0501.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,75 (3H, s, CH_3) ; 7,38 (1H, pt, $J = 7,5$ Hz) ; 7,52 (1H, d, $J = 7,0$ Hz) ; 8,95 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,58 (1H, s, NH) ; 11,60 (1H, s, NH) ; 12,36 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 17,5 (CH_3) ; 121,7 ; 123,0 ; 130,9 (CH arom) ; 118,1 ; 119,5 ; 119,8 ; 122,5 ; 125,0 ; 125,8 ; 131,3 ; 137,1 ; 143,1 (C arom) ; 166,2 (2C) ; 168,2 ; 169,1 (C=O).

9-Méthyl-1,3,4,6-tétrahydro-2H,5H,7H-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (42d)



42d

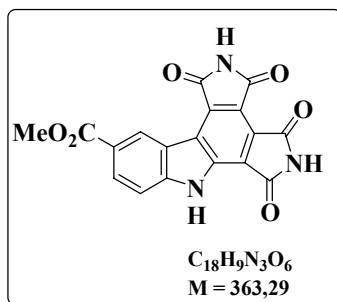
F > 300°C

IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1720, 1765 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3100\text{-}3400 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (ESI+) calculée pour $C_{17}H_9N_3NaO_4 [M+Na]^+$: 342,0491 ; trouvée : 342,0494.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,56 (3H, s, CH₃) ; 7,26 (1H, d, $J = 8,5 \text{ Hz}$) ; 7,54 (1H, s) ; 8,82 (1H, d, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 11,53 (1H, s, NH) ; 11,54 (1H, s, NH) ; 12,62 (1H, se, NH).

10-Méthoxycarbonyl-1,3,4,6-tétrahydro-2H,5H,7H-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (43d)



43d

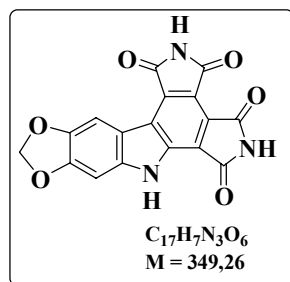
F > 300°C

IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1715, 1774 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3100\text{-}3400 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (ESI+) calculée pour $C_{18}H_9N_3NaO_6 [M+Na]^+$: 386,0389 ; trouvée : 386,0396.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 3,97 (3H, s, CH₃) ; 7,88 (1H, d, $J = 9,0 \text{ Hz}$) ; 8,31 (1H, dd, $J_1 = 8,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,5 \text{ Hz}$) ; 9,72 (1H, d, $J = 1,5 \text{ Hz}$) ; 11,68 (1H, s, NH) ; 11,72 (1H, s, NH) ; 13,15 (1H, s, NH).

9,10-Méthylènedioxy-1,3,4,6-tétrahydro2*H*,5*H*,7*H*-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (44d**)**



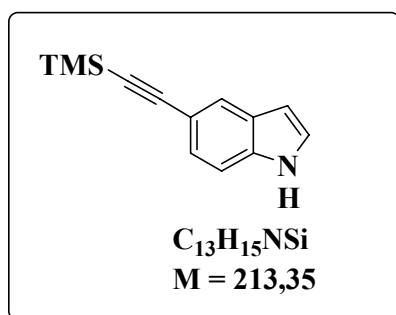
44d

IR (ATR) : $\nu_{C=C} = 1627\text{ cm}^{-1}$; $\nu_{C=O} = 1706, 1753\text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3248\text{ cm}^{-1}$.

Masse (IE+) m/z : 349 $[M]^+$

RMN 1H (200 MHz, DMSO- d_6) : 6,20 (2H, s) ; 7,05 (1H, s) ; 8,18 (1H, s) ; 11,4 (2H, s, NH) ; 12,4 (1H, s, NH).

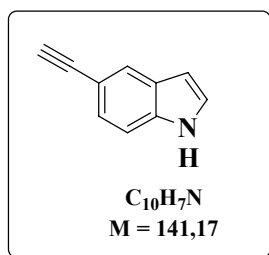
5-(2-Triméthylsilyléthynyl)-1*H*-indole (45**)**



45

Un mélange de 5-iodoindole (200 mg ; 0,82 mmol), de triméthylsilylacétylène (182 μL ; 1,28 mmol), de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ (17,3 mg ; 0,025 mmol), d'iodure de cuivre (8 mg, 0,042 mmol) et de triéthylamine (235 μL) dans l'acétonitrile (881 μL) est chauffé à reflux pendant 18 heures. Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est hydrolysé puis extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO_4 . Après filtration et évaporation du solvant, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 9:1) ce qui permet d'obtenir le composé **45** (81,1 mg ; 0,380 mmol ; $R = 46\%$) sous la forme d'une huile marron.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 0,27 (9H, s) ; 6,46-6,49 (1H, m) ; 7,18 (1H, dd, $J_1 = 8,5\text{ Hz}$, $J_2 = 1,5\text{ Hz}$) ; 7,41 (1H, d, $J = 8,5\text{ Hz}$) ; 7,44 (1H, t, $J = 2,5\text{ Hz}$) ; 7,72 (1H, s) ; 11,35 (1H, se, NH).

5-Ethynyl-1*H*-indole (46**)****46**

Un mélange de 5-iodoindole (200 mg ; 0,82 mmol), de triméthylsilylacétylène (182 μL ; 1,28 mmol), de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (28 mg ; 0,024 mmol), d'iodure de cuivre (8 mg, 0,042 mmol) et de triéthylamine (235 μL) dans l'acétonitrile (881 μL) est chauffé à reflux pendant 4 heures. Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est hydrolysé puis extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée avec une solution aqueuse saturée en NaCl, séché sur MgSO_4 , filtrée puis évaporée. Le résidu est repris dans une solution aqueuse 0,2 M de NaOH (6,15 mL) et du méthanol (6 mL). Le mélange est agité à température ambiante pendant 2 heures avant d'être filtré sur Célite et évaporé. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 8:2) ce qui conduit à l'obtention du composé **46** (101 mg ; 0,72 mmol ; R = 87%) sous la forme d'un solide marron.

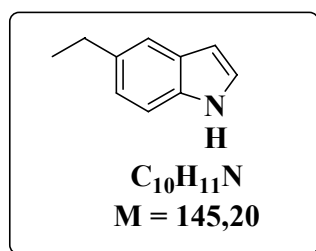
F = 64-66°C

IR (KBr) : $\nu_{\text{C}\equiv\text{C}} = 2098 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C-H}} = 3268 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3427 \text{ cm}^{-1}$.

Masse (IC+) m/z : 142 $[\text{M}+\text{H}]^+$

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 3,93 (1H, s, $\equiv\text{CH}$) ; 6,47-6,50 (1H, m) ; 7,21 (1H, dd, $J_1 = 8,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,5 \text{ Hz}$) ; 7,41-7,46 (2H, m) ; 7,75 (1H, s) ; 11,34 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 77,5 ($\equiv\text{CH}$) ; 85,5 (C_{alcyne}) ; 101,3 ; 111,7 ; 124,1 ; 124,4 ; 126,6 (CH arom) ; 111,8 ; 127,4 ; 135,7 (C arom).

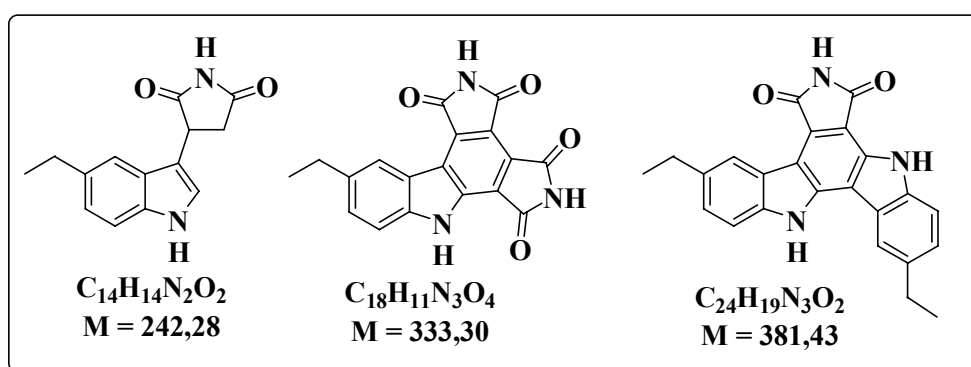
5-Ethyl-1*H*-indole (47)**47**

Une solution du composé **46** (93 mg ; 0,66 mmol) dans le méthanol anhydre (10 mL) en présence de charbon palladié à 10% (28 mg) est placée sous vide pendant 20 minutes puis le milieu réactionnel est hydrogéné (1 atm) pendant 2 heures. Après filtration sur Célite et évaporation du filtrat, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 8:2) ce qui conduit à l'obtention du composé **47** (79 mg ; 0,54 mmol ; R = 82%) sous la forme d'une huile marron.

IR (film) : $\nu_{\text{NH}} = 3250\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,25 (3H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 2,69 (2H, q, *J* = 7,5 Hz) ; 6,37 (1H, s) ; 6,97 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,29-7,35 (2H, m) ; 7,37 (1H, s) ; 10,96 (1H, se, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 16,6 (CH₃) ; 29,1 (CH₂) ; 102,3 ; 110,8 ; 119,2 ; 122,7 ; 124,3 (CH arom) ; 128,1 ; 134,3 ; 135,8 (C arom).

3-(2,5-Dioxopyrrolidin-3-yl)- 5-éthyl-1*H*-indole (48)**10-Ethyl-1,3,4,6-tétrahydro-2*H*,5*H*,7*H*-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (50)****2,10-Diéthyl-6,8-dihydro-5*H*,7*H*,13*H*-indolo[3,2-*a*]pyrrolo[3,4-*c*]carbazole-6,8-dione (49)****48****50****49**

Un mélange du composé **47** (79 mg ; 0,54 mmol) et de maléimide (58 mg ; 0,60 mmol) dans l'acide acétique (1 mL) est chauffé à reflux pendant 15 heures. Du maléimide est de nouveau ajouté (58 mg ; 0,60 mmol) et le mélange est chauffé à reflux 10 heures supplémentaires. Après retour à température ambiante, l'acide acétique est évaporé. Le résidu est repris à l'acétate d'éthyle, filtré sur verre fritté puis lavé à l'acétate d'éthyle. Le solide obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/THF 7:3) pour conduire au composé **50** (11,8 mg ; 0,035 mmol ; R = 6%) et au composé **49** (3,8 mg ; 0,010 mmol ; R = 2%) sous la forme de solides oranges. D'autre part, le filtrat est évaporé puis purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 7:3 à 5:5) ce conduit à l'obtention du composé **48** sous la forme d'un solide marron (39,6 mg ; 0,163 mmol ; R = 30%).

Composé 48 :

F = 220-222 °C

IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1685, 1775 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{NH} = 3150-3450 \text{ cm}^{-1}$.Masse (IC+) m/z : 243 $[M+H]^+$

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,24 (3H, t, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 2,69 (2H, q, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 2,79 (1H, dd, $J_1 = 18,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 5,5 \text{ Hz}$) ; 3,21 (1H, dd, $J_1 = 18,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 9,5 \text{ Hz}$) ; 4,34 (1H, dd, $J_1 = 9,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 5,5 \text{ Hz}$) ; 7,00 (1H, dd, $J_1 = 8,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,5 \text{ Hz}$) ; 7,25 (1H, s) ; 7,29-7,34 (2H, m) ; 10,93 (1H, se, NH) ; 11,32 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 16,6 (CH₃) ; 28,5 ; 37,4 (CH₂) ; 39,0 (CH) ; 111,5 ; 116,7 ; 121,8 ; 123,3 (CH arom) ; 110,6 ; 126,1 ; 134,0 ; 135,0 (C arom) ; 178,1 ; 180,0 (C=O).

Composé 49 :

F > 285°C

IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1700, 1735 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{NH} = 3150-3380 \text{ cm}^{-1}$.Masse (IC+) m/z : 382 $[M+H]^+$

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,36 (3H, t, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 1,42 (3H, t, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 2,87 (2H, q, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 2,92 (2H, q, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 7,41-7,45 (2H, m) ; 7,68 (1H, d, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 7,69 (1H, d, $J = 8,5$

Hz) ; 8,62 (1H, s) ; 8,82 (1H, s) ; 11,02 (1H, s, NH) ; 12,04 (1H, s, NH) ; 12,17 (1H, s, NH).

Composé 50 :

F > 300°C

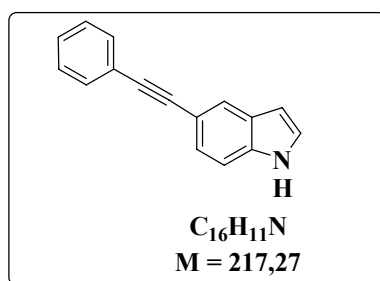
IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}} = 1720, 1761 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3100\text{-}3600 \text{ cm}^{-1}$.

Masse (ESI+) m/z : 356 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,33 (3H, t, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 2,85 (2H, q, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 7,56 (1H, dd, $J_1 = 8,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,5 \text{ Hz}$) ; 7,69 (1H, d, $J = 8,5 \text{ Hz}$) ; 8,83 (1H, s) ; 11,53 (1H, s, NH) ; 11,56 (1H, s, NH) ; 12,63 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 16,2 (CH_3) ; 28,4 (CH_2) ; 112,6 ; 123,9 ; 130,4 (CH arom) ; 117,8 ; 119,3 ; 119,5 ; 124,2 ; 125,5 ; 131,4 ; 136,9 ; 137,1 ; 142,5 (C arom) ; 166,4 (2C) ; 168,7 ; 169,3 (C=O).

5-(2-Phényléthynyl)-1H-indole (51)



51

Un mélange de 5-iodoindole (100 mg ; 0,41 mmol), de phénylacétylène (71 μL ; 0,65 mmol ; 1,6 équiv.), d'iodure de cuivre (4 mg ; 0,021 mmol ; 5 mol%) de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (14 mg ; 0,014 mmol ; 3 mol%) et de triéthylamine (117 μL) dans l'acétonitrile (440 μL) est chauffé à reflux sous argon pendant 23 heures. Après évaporation du milieu réactionnel, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 9:1) ce qui permet d'obtenir le composé 51 (79 mg ; 0,36 mmol ; R = 88%) sous la forme d'un solide marron clair.

F = 135 °C

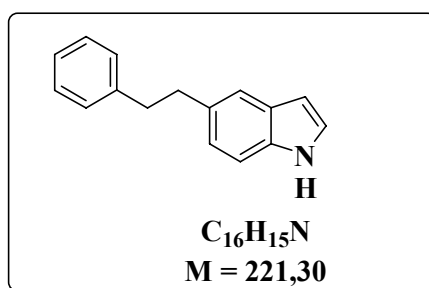
IR (KBr) : $\nu_{\text{C}\equiv\text{C}} = 2204 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C}=\text{C}} = 1592 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3409 \text{ cm}^{-1}$.

Masse (IC+) m/z : 218 $[M+H]^+$

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 6,51 (1H, s) ; 7,29 (1H, dd, $J_1 = 8,5$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz) ; 7,40-7,49 (5H, m) ; 7,55-7,60 (2H, m) ; 7,82 (1H, s) ; 11,38 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 86,6 ; 91,6 ; 112,3 ; 123,2 ; 127,6 ; 135,7 (C_{alcyne} et C arom) ; 101,4 ; 111,9 ; 123,8 ; 124,3 ; 126,7 ; 128,1 ; 128,7 ; 131,1 (CH arom).

5-(2-Phényléthyl)-1H-indole (**52**)



52

A une solution du composé **51** (366 mg ; 1,68 mmol) dans le méthanol anhydre (25 mL) est ajouté du charbon palladié à 10% (134 mg). Après avoir purgé sous vide pendant 20 minutes, le milieu réactionnel est placé sous atmosphère d'hydrogène (1 atm) puis agité pendant 20 heures. Après filtration sur Célite et évaporation du filtrat, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 9:1) ce qui permet d'obtenir le composé **52** (236 mg ; 1,07 mmol ; R = 63%) sous la forme d'un solide blanc.

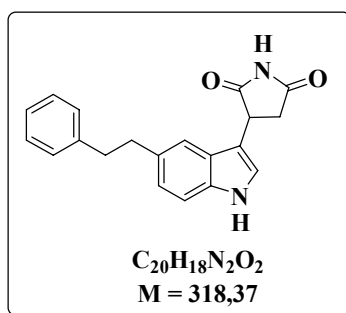
F = 75 °C

IR (KBr) : $\nu_{C=C} = 1580, 1600 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3410 \text{ cm}^{-1}$.

Masse (ESI+) m/z : 244 $[M+Na]^+$

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,90-3,00 (4H, m) ; 6,35-6,38 (1H, m) ; 7,01 (1H, dd, $J_1 = 8,5$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz) ; 7,18-7,23 (1H, m) ; 7,25-7,34 (6H, m) ; 7,40 (1H, s) ; 10,99 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 37,5 ; 38,1 (CH_2) ; 100,6 ; 111,0 ; 119,1 ; 121,9 ; 125,2 ; 125,7 ; 128,2 (2C) ; 128,4 (2C) (CH arom) ; 127,7 ; 131,7 ; 134,5 ; 141,9 (C arom).

3-(2,5-Dioxopyrrolidin-3-yl)- 5-(2-phényléthyl)-1H-indole (53)**53**

Un mélange de maléimide (102 mg ; 1,05 mmol) et de composé 52 (213 mg ; 0,96 mmol) est chauffé à reflux dans l'acide acétique (0,8 mL) pendant 21 heures. Après retour à température ambiante, le solvant est évaporé et le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution : cyclohexane/acétate d'éthyle 7:3 à 4:6) ce qui conduit à l'obtention du composé 53 (125 mg ; 0,39 mmol ; R = 41%) sous la forme d'un solide blanc cassé.

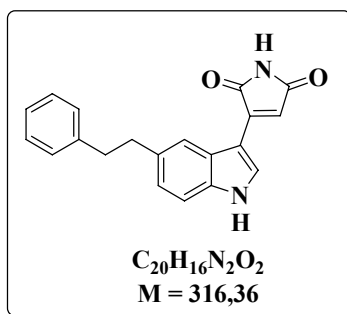
F = 208-218 °C

IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1690, 1775 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3100-3260, 3260-3500 \text{ cm}^{-1}$.

Masse (ESI+) m/z : 341 $[M+Na]^+$

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,75 (1H, dd, $J_1 = 18,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 5,5 \text{ Hz}$) ; 2,88-3,00 (4H, m) ; 3,19 (1H, dd, $J_1 = 18,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 9,5 \text{ Hz}$) ; 4,33 (1H, dd, $J_1 = 9,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 5,5 \text{ Hz}$) ; 7,04 (1H, dd, $J_1 = 8,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,5 \text{ Hz}$) ; 7,18-7,23 (1H, m) ; 7,25-7,33 (7H, m) ; 10,95 (1H, se, NH) ; 11,32 (1H, se, NH) .

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 37,4 ; 37,5 ; 38,0 (CH_2) ; 39,0 (CH) ; 111,4 ; 117,5 ; 122,4 ; 123,4 ; 125,7 ; 128,2 (2C) ; 128,4 (2C) (CH arom) ; 110,6 ; 126,1 ; 131,6 ; 135,1 ; 141,8 (C arom) ; 178,0 ; 179,9 (C=O).

3-(2,5-Dihydro-2,5-dioxo-pyrrol-3-yl)-5-(2-phényléthyl)-1H-indole (54)**54**

Une solution de DDQ (87 mg ; 0,383 mmol) dans le dioxane (2,9 mL) est additionnée lentement à une solution du composé 53 (117 mg ; 0,367 mmol) dans le dioxane (2,9 mL). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 3 heures puis filtré sur verre fritté. Le filtrat est évaporé sous pression réduite. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 7:3) ce qui permet d'obtenir le composé 54 (102 mg ; 0,322 mmol ; R = 88%) sous la forme d'un solide orange.

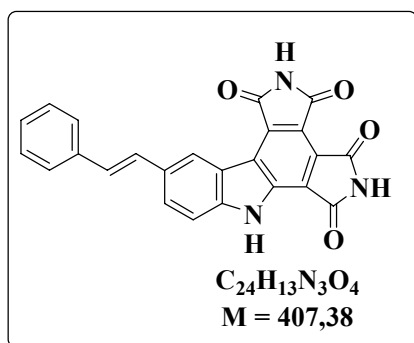
F = 212 °C

IR (KBr) : $\nu_{C=C} = 1605 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{C=O} = 1690$; 1760 cm^{-1} ; $\nu_{NH} = 3120\text{-}3460 \text{ cm}^{-1}$.

Masse (ESI+) m/z : 339 $[M+Na]^+$

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,94-3,01 (2H, m) ; 3,02-3,08 (2H, m) ; 6,84 (1H, s) ; 7,17 (1H, d, $J = 8,5 \text{ Hz}$) ; 7,19-7,25 (1H, m) ; 7,29-7,34 (4H, m) ; 7,45 (1H, d, $J = 8,5 \text{ Hz}$) ; 7,86 (1H, s) ; 8,35 (1H, d, $J = 2,0 \text{ Hz}$) ; 10,77 (1H, s, NH) ; 11,96 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 37,4 ; 38,1 (CH_2) ; 112,2 ; 114,9 ; 119,8 ; 123,9 ; 125,7 ; 128,2 (2C) ; 128,4 (2C) ; 130,9 (CH) ; 105,1 ; 125,8 ; 134,9 ; 135,2 ; 139,5 ; 141,9 (C) ; 173,2 ; 173,5 (C=O).

(E)-10-Styryl-1,3,4,6-tétrahydro-2H,5H,7H-dipyrrolo[3,4-*a*:3',4'-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (55)**55**

Un mélange du composé 54 (107 mg ; 0,338 mmol) et de maléimide (36 mg ; 0,371 mmol) dans le *p*-xylène (5,8 mL) est porté à reflux pendant 24 heures. Après retour à température ambiante, le mélange est filtré et le solide est lavé au *p*-xylène et séché. Le solide obtenu (123 mg des 124,6 mg isolés) est chauffé à reflux dans le dioxane (4 mL) pendant 3 jours en présence de DDQ (138 mg ; 0,61 mmol). Après retour à température ambiante, Le milieu réactionnel est évaporé puis le résidu est repris à l'eau et filtré. Le solide est lavé à l'eau et à l'acétate d'éthyle. Le composé 55 (36,9 mg ; 0,091 mmol ; R = 27%) est obtenu sous la forme d'un solide rouge brique.

F > 290 °C

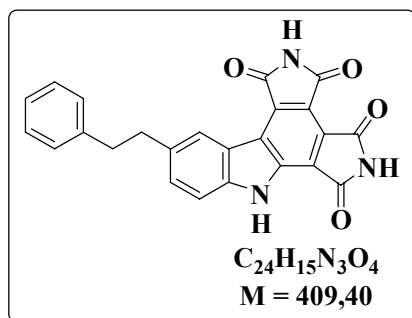
IR (KBr) : $\nu_{C=C} = 1600\text{ cm}^{-1}$; $\nu_{C=O} = 1720, 1775\text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3150\text{-}3400\text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (ESI+) calculée pour $C_{24}H_{13}N_3NaO_4$ $[M+Na]^+$: 430,0804 ; trouvée : 430,0803.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 7,29 (1H, d, $J = 16,5\text{ Hz}$) ; 7,32 (1H, t, $J = 7,5\text{ Hz}$) ; 7,44 (2H, t, $J = 7,5\text{ Hz}$) ; 7,50 (1H, d, $J = 16,5\text{ Hz}$) ; 7,72 (2H, d, $J = 7,5\text{ Hz}$) ; 7,79 (1H, d, $J = 8,5\text{ Hz}$) ; 8,04 (1H, d, $J = 8,5\text{ Hz}$) ; 9,14 (1H, s) ; 11,59 (1H, s, NH) ; 11,65 (1H, s, NH) ; 12,84 (1H, s, NH).

En raison de son insolubilité dans le DMSO, le spectre de RMN ^{13}C du composé 55 n'a pu être enregistré.

10-(2-Phényléthyl)-1,3,4,6-tétrahydro-2*H*,5*H*,7*H*-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone
(56)



56

Un mélange de composé **54** (79 mg ; 0,234 mmol) et de maléimide (26,7 mg ; 0,275 mmol) dans le *p*-xylène (4,3 mL) est porté à reflux pendant 24 heures. Après retour à température ambiante, le mélange est filtré et le solide est lavé au *p*-xylène puis séché. Le composé obtenu (30,0 mg des 81 mg isolés) est chauffé à 80 °C en présence de TFA (56 µL, 0,73 mmol) pendant 48 heures. Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est évaporé et le résidu est repris à l'eau, filtré sur verre fritté puis lavé à l'eau. On obtient le composé **56** (24,0 mg ; 0,059 mmol ; R = 68%) sous la forme d'un solide orange.

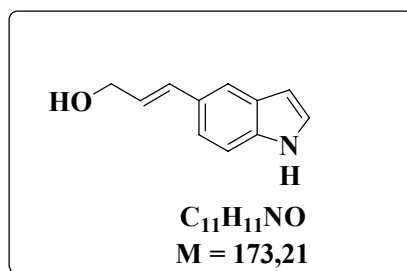
F > 290 °C

IR (KBr) : $\nu_{C=C} = 1607\text{ cm}^{-1}$; $\nu_{C=O} = 1721, 1773\text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3140\text{-}3460\text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (ESI+) calculée pour $C_{24}H_{15}N_3NaO_4$ $[M+Na]^+$: 432,0960 ; trouvée : 432,0956.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 3,00-3,07 (2H, m) ; 3,09-3,17 (2H, m) ; 7,19-7,25 (1H, m) ; 7,29-7,35 (4H, m) ; 7,58 (1H, dd, $J_1 = 8,5\text{ Hz}$, $J_2 = 1,5\text{ Hz}$) ; 7,69 (1H, d, $J = 8,5\text{ Hz}$) ; 8,88 (1H, s) ; 11,55 (1H, s, NH) ; 11,58 (1H, s, NH) ; 12,68 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 37,2 ; 37,5 (CH₂) ; 112,5 ; 124,5 ; 125,8 ; 128,2 (2C) ; 128,4 (2C) ; 130,9 (CH arom) ; 117,8 ; 119,3 ; 119,4 ; 124,2 ; 125,5 ; 131,4 ; 134,7 ; 136,9 ; 141,4 ; 142,6 (C arom) ; 166,4 (2C) ; 168,6 ; 169,2 (C=O).

5-(3-Hydroxypropényl)-1*H*-indole (57)**57**

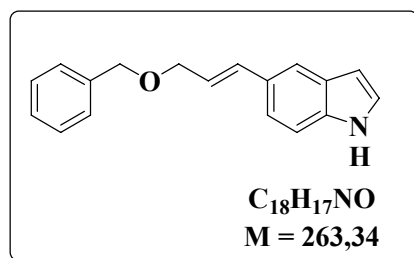
A un mélange de 5-iodoindole (200 mg ; 0,82 mmol) et d'alcool allylique (168 μ L ; 2,47 mmol ; 3 équiv.) dans le DMF (1 mL) sont ajoutés PPh₃ (18,6 mg ; 0,071 mmol), Pd(OAc)₂ (14 mg ; 0,062 mmol) et AgOAc (137 mg ; 0,82 mmol). Le mélange réactionnel est agité à 70 °C pendant 6 heures. Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est filtré sur Célite. Après lavage de la Célite au MeOH et au THF, le filtrat est évaporé. Après addition d'eau et extraction à l'acétate d'éthyle, la phase organique est séchée sur MgSO₄. Après filtration et évaporation du solvant, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 7:3) ce qui conduit à l'obtention du composé **57** (49 mg ; 0,283 mmol ; R = 34%) sous la forme d'une huile orangée.

IR (film) : $\nu_{C=C}$ = 1620, 1650 cm^{-1} ; $\nu_{\text{NH, OH}}$ = 3090-3650 cm^{-1} .

Masse (IC+) m/z : 174 $[\text{M}+\text{H}]^+$

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 4,15 (2H, td, J_1 = 5,5 Hz, J_2 = 1,5 Hz) ; 4,80 (1H, t, J = 5,5 Hz, OH) ; 6,27 (1H, dt, J_1 = 16,0 Hz, J_2 = 5,5 Hz) ; 6,42-6,44 (1H, m) ; 6,63 (1H, d, J = 16,0 Hz) ; 7,27 (1H, dd, J_1 = 8,5 Hz, J_2 = 1,5 Hz) ; 7,34 (1H, t, J = 2,5 Hz) ; 7,37 (1H, d, J = 8,5 Hz) ; 7,56 (1H, s) ; 11,11 (1H, se, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 61,9 (CH₂) ; 101,3 ; 111,5 ; 118,4 ; 119,3 ; 125,7 ; 126,9 ; 130,4 (CH) ; 127,8 ; 128,0 ; 135,5 (C arom).

5-(3-Benzyloxypropényl)-1*H*-indole (58)**58**

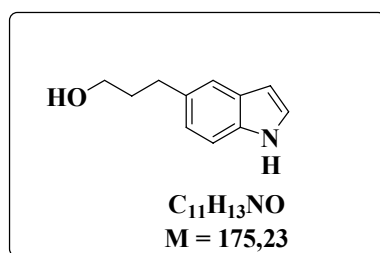
A un mélange de 5-iodoindole (1,00 g ; 4,11 mmol) et d'allylbenzyléther (1,90 mL ; 12,3 mmol) dans le DMF (5 mL) sont ajoutés PPh₃ (93 mg ; 0,355 mmol), Pd(OAc)₂ (46 mg ; 0,205 mmol) et AgOAc (686 mg ; 4,11 mmol). Le mélange réactionnel est agité à 70 °C pendant 20 heures. Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est filtré sur Célite. La Célite est lavée au MeOH et au THF puis le filtrat est évaporé. Après addition d'une solution aqueuse saturée en NaCl et extraction à l'acétate d'éthyle, la phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporée. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 9:1) ce qui conduit à l'obtention du composé **58** (476 mg ; 1,81 mmol ; R = 44%) sous la forme d'une huile jaune pâle.

IR (film) : $\nu_{C=C}$ 1618, 1652 cm⁻¹ ; ν_{NH} = 3120-3520 cm⁻¹.

Masse (IC⁺) m/z : 264 [M+H]⁺

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 4,20 (2H, dd, J_1 = 6,0 Hz, J_2 = 1,0 Hz) ; 4,56 (2H, s) ; 6,31 (1H, dt, J_1 = 16,0 Hz, J_2 = 6,0 Hz) ; 6,44-6,47 (1H, m) ; 6,73 (1H, d, J = 16,0 Hz) ; 7,30-7,43 (8H, m) ; 7,62 (1H, s) ; 11,16 (1H, se, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 70,6 ; 71,1 (CH₂) ; 101,4 ; 111,6 ; 118,8 ; 119,4 ; 122,5 ; 125,8 ; 127,3 ; 127,5 (2C) ; 128,2 (2C) ; 133,6 (CH arom) ; 127,5 ; 127,8 ; 135,7 ; 138,6 (C arom).

5-(3-Hydroxypropyl)-1H-indole (59)**59**

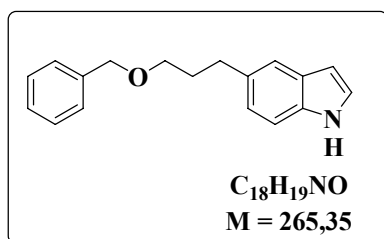
Une solution du composé 57 (225 mg ; 1,30 mmol) dans le méthanol anhydre (20 mL) en présence de charbon palladié à 10% (23 mg) est purgée sous vide pendant 20 minutes avant d'être hydrogénée (1 atm) pendant 3 heures. Après filtration sur Célite et évaporation du filtrat, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 7:3) ce qui conduit à l'obtention du composé 59 (134 mg ; 0,765 mmol ; R = 59%) sous la forme d'une huile jaune-orangée.

IR (film) : $\nu_{NH, OH} = 3100-3650\text{ cm}^{-1}$

Masse (IC+) m/z : 176 $[M+H]^+$

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,73-1,82 (2H, m) ; 2,69 (2H, t, $J = 7,5\text{ Hz}$) ; 3,46 (2H, dt, $J_1 = 6,5\text{ Hz}$, $J_2 = 5,0\text{ Hz}$) ; 4,46 (1H, t, $J = 5,0\text{ Hz}$, OH) ; 6,35-6,37 (1H, m) ; 6,95 (1H, dd, $J_1 = 8,5\text{ Hz}$, $J_2 = 1,5\text{ Hz}$) ; 7,29-7,33 (2H, m) ; 7,34-7,36 (1H, m) ; 10,95 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 31,9 ; 35,2 ; 60,3 (CH_2) ; 100,6 ; 111,1 ; 119,0 ; 122,0 ; 125,2 (CH arom) ; 127,8 ; 132,3 ; 134,4 (C arom).

5-(3-Benzyloxypropyl)-1H-indole (60)**60**

Une solution du composé 58 (388 mg ; 1,47 mmol) dans le méthanol anhydre (22 mL) en présence de pyridine (145 μL ; 1,79 mmol) et de charbon palladié à 10% (39 mg) est purgée sous vide pendant 20 minutes avant d'être hydrogénée (1 atm) pendant 4 heures. Après filtration sur Célite et évaporation du filtrat, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate

d'éthyle 9:1) ce qui conduit à l'obtention du composé **60** (363 mg ; 1,37 mmol ; R = 93%) sous la forme d'une huile marron.

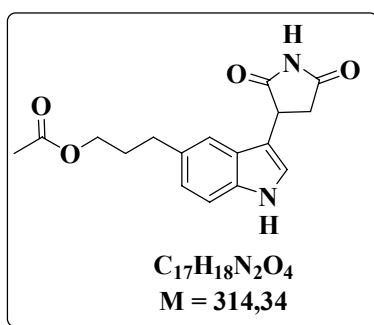
IR (film) : $\nu_{C=C} = 1582 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3180\text{-}3500 \text{ cm}^{-1}$.

Masse (IC+) m/z : 266 $[M+H]^+$

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,86-1,95 (2H, m) ; 2,73 (2H, t, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 3,47 (2H, t, $J = 6,5 \text{ Hz}$) ; 4,49 (2H, s) ; 6,35-6,38 (1H, m) ; 6,95 (1H, d, $J = 8,5 \text{ Hz}$) ; 7,29-7,42 (8H, m) ; 10,98 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 31,8 ; 31,9 ; 69,0 ; 71,8 (CH_2) ; 100,6 ; 111,1 ; 119,1 ; 121,9 ; 125,2 ; 127,3 ; 127,5 (2C) ; 128,2 (2C) (CH arom) ; 127,8 ; 131,7 ; 134,4 ; 138,7 (C arom).

5-(3-Acétoxypropyl)-3-(2,5-dioxopyrrolidin-3-yl)-1H-indole (**61**)



61

Un mélange du composé **59** (134 mg ; 0,765 mmol) et de maléimide (80 mg ; 0,82 mmol) dans l'acide acétique (685 μL) est chauffé à reflux pendant 20 heures. Après retour à température ambiante, l'acide acétique est évaporé. La purification du résidu par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution : cyclohexane/acétate d'éthyle de 7:3 à 4:6) conduit à l'obtention du composé **61** (102 mg ; 0,324 mmol ; R = 42%) sous la forme d'une huile jaune.

IR (film) : $\nu_{C=O} = 1712, 1772 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3090\text{-}3690 \text{ cm}^{-1}$

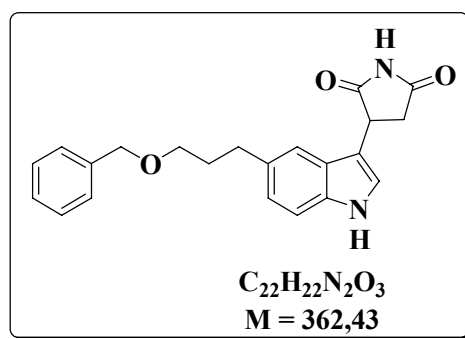
Masse (IC+) m/z : 315 $[M+H]^+$

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,88-1,97 (2H, m) ; 2,01 (3H, s) ; 2,72 (2H, t, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 2,80 (1H, dd, $J_1 = 18,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 5,5 \text{ Hz}$) ; 3,21 (1H, dd, $J_1 = 18,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 9,5 \text{ Hz}$) ; 4,04 (2H, t, $J = 6,5 \text{ Hz}$) ; 4,35 (1H, dd, $J_1 = 9,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 5,5 \text{ Hz}$) ; 7,00 (1H, dd, $J_1 = 8,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,5 \text{ Hz}$) ; 7,26 (1H, s) ; 7,30-7,35

(2H, m) ; 10,97 (1H, s, NH) ; 11,33 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 20,7 (CH₃) ; 30,5 ; 31,7 ; 37,4 ; 63,3 (CH₂) ; 39,0 (CH) ; 111,6 ; 117,5 ; 122,2 ; 123,4 (CH arom) 110,6 ; 126,2 ; 131,2 ; 135,1 (C arom) ; 170,4 ; 178,1 ; 179,9 (C=O).

5-(3-Benzoyloxypropyl)-3-(2,5-dioxopyrrolidin-3-yl)-1H-indole (62**)**



62

Un mélange de composé **60** (352 mg ; 1,33 mmol) et de maléimide (135 mg ; 1,39 mmol) est chauffé à reflux dans l'acide acétique (1,1 mL) pendant 20 heures. Après retour à température ambiante, l'acide acétique est évaporé. La purification du résidu par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane / acétate d'éthyle de 7:3 à 4:6) conduit à l'obtention du composé **62** (237 mg ; 0,654 mmol ; R = 49%) sous la forme d'un solide marron foncé.

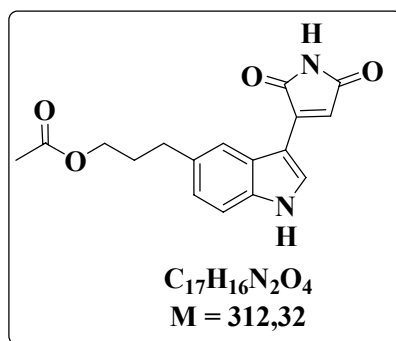
F = 110 °C

IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}} = 1685, 1780 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3100\text{-}3500 \text{ cm}^{-1}$.

Masse (ESI+) m/z : 385 [M+Na]⁺

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,84-1,93 (2H, m) ; 2,73 (2H, t, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 2,79 (1H, dd, $J_1 = 18,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 5,5 \text{ Hz}$) ; 3,21 (1H, dd, $J_1 = 18,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 9,5 \text{ Hz}$) ; 3,48 (2H, t, $J = 6,5 \text{ Hz}$) ; 4,34 (1H, dd, $J_1 = 9,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 5,5 \text{ Hz}$) ; 4,50 (2H, s) ; 6,99 (1H, dd, $J_1 = 8,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,5 \text{ Hz}$) ; 7,26 (1H, s) ; 7,29-7,42 (7H, m) ; 10,95 (1H, d, $J = 1,5 \text{ Hz}$, NH) ; 11,34 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 31,9 ; 32,0 ; 37,4 ; 69,0 ; 71,9 (CH₂) ; 39,0 (CH) ; 111,5 ; 117,4 ; 122,3 ; 123,4 ; 127,3 ; 127,5 (2C) ; 128,2 (2C) (CH arom) ; 110,6 ; 126,2 ; 131,8 ; 135,1 ; 138,7 (C arom) ; 178,1 ; 180,0 (C=O).

5-(3-Acétoxypropyl) 3-(2,5-dihydro-2,5-dioxo-pyrrol-3-yl)-1*H*-indole (63**)****63**

Une solution de DDQ (82 mg ; 0,361 mmol) dans le dioxane (2,7 mL) est additionnée lentement à une solution du composé **61** (108 mg ; 0,344 mmol) dans le dioxane (2,7 mL). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 3 heures puis filtré sur verre fritté. Le filtrat est évaporé sous pression réduite. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 7:3) ce qui permet d'obtenir le composé **63** (75 mg ; 0,240 mmol ; R = 70%) sous la forme d'un solide jaune.

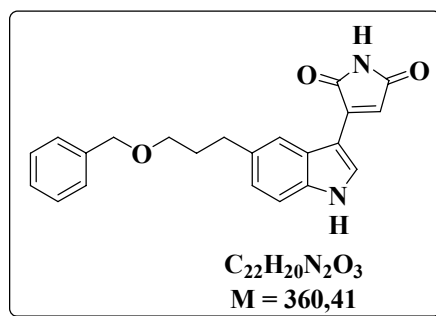
F = 165 °C

IR (KBr) : $\nu_{\text{C}=\text{C}} = 1610 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C}=\text{O}} = 1690, 1740, 1760 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3090\text{-}3490 \text{ cm}^{-1}$

Masse (ESI+) m/z : 335 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,94-2,03 (2H, m) ; 2,05 (3H, s) ; 2,81 (2H, t, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 4,05 (2H, t, $J = 6,5 \text{ Hz}$) ; 6,86 (1H, d, $J = 1,0 \text{ Hz}$) ; 7,14 (1H, dd, $J_1 = 8,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,5 \text{ Hz}$) ; 7,46 (1H, d, $J = 8,5 \text{ Hz}$) ; 7,83 (1H, s) ; 8,36 (1H, d, $J = 3,0 \text{ Hz}$) ; 10,77 (1H, s, NH) ; 11,96 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 20,7 (CH₃) ; 30,5 ; 31,6 ; 63,4 (CH₂) ; 112,3 ; 115,0 ; 119,7 ; 123,8 ; 130,9 (CH arom) ; 105,1 ; 125,8 ; 134,5 ; 135,2 ; 139,5 (C) ; 170,5 ; 173,2 ; 173,5 (C=O).

5-(3-Benzyloxypropyl)-3-(2,5-dihydro-2,5-dioxo-pyrrol-3-yl)-1*H*-indole (64**)****64**

Une solution de DDQ (152,0 mg ; 0,67 mmol) dans le dioxane (5 mL) est additionnée lentement à une solution du composé **62** (231 mg ; 0,64 mmol) dans le dioxane (5 mL). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 3 heures puis filtré sur verre fritté. Le filtrat est évaporé sous pression réduite. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 7:3) ce qui permet d'obtenir le composé **64** (197 mg ; 0,55 mmol ; R = 86%) sous la forme d'un solide jaune.

F = 160 °C

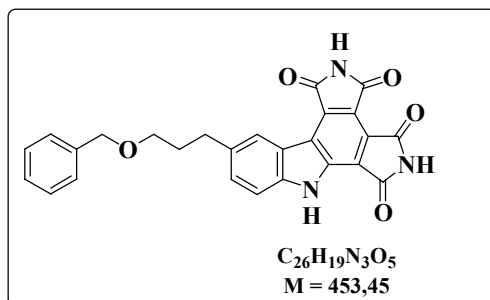
IR (KBr) : $\nu_{\text{C}=\text{C}} = 1610 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C}=\text{O}} = 1705, 1760 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3150\text{-}3400 \text{ cm}^{-1}$.

Masse (ESI+) m/z : 383 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,91-2,00 (2H, m) ; 2,82 (2H, t, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 3,49 (2H, t, $J = 6,5 \text{ Hz}$) ; 4,50 (2H, s) ; 6,84 (1H, d, $J = 1,0 \text{ Hz}$) ; 7,13 (1H, dd, $J_1 = 8,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,5 \text{ Hz}$) ; 7,28-7,41 (5H, m) ; 7,45 (1H, d, $J = 8,5 \text{ Hz}$) ; 7,81 (1H, s) ; 8,35 (1H, d, $J = 3,0 \text{ Hz}$) ; 10,77 (1H, s, NH) ; 11,96 (1H, d, $J = 2,5 \text{ Hz}$, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 31,8 ; 32,0 ; 69,1 ; 71,9 (CH_2) ; 112,2 ; 114,9 ; 119,7 ; 123,8 ; 127,3 ; 127,5 (2C) ; 128,2 (2C) ; 130,9 (CH arom) ; 105,1 ; 125,8 ; 135,1 (2C) ; 138,7 ; 139,5 (C quat) ; 173,2 ; 173,5 (C=O).

10-(3-Benzyloxypropyl)-1,3,4,6-tétrahydro-2*H*,5*H*,7*H*-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (65**)**



65

Un mélange du composé **64** (191 mg ; 0,53 mmol) et de maléimide (56,7 mg ; 0,58 mmol) dans le *p*-xylène (9 mL) est porté à reflux pendant 24 heures. Après retour à température ambiante, le mélange est filtré et le solide est lavé au *p*-xylène puis séché. Le composé obtenu (50,0 mg des 223 mg isolés) est chauffé à 80°C dans le dioxane (3,6 mL) en présence de TFA (265 μL ; 3,44 mmol) pendant 3 jours. Après retour à température ambiante, Le milieu réactionnel est évaporé et le résidu est repris à l'eau, filtré sur verre fritté puis lavé à l'eau. On obtient le composé **65** (41,5 mg ; 0,092 mmol ; R = 77%) sous la forme d'un solide orange.

F > 290 °C

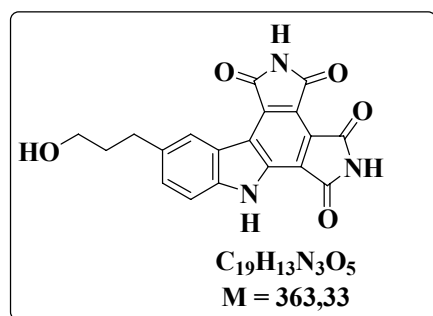
IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}} = 1721, 1759, 1774 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3080\text{-}3590 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (ESI+) calculée pour $\text{C}_{26}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{NaO}_5$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 476,1222 ; trouvée : 476,1202.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,94-2,03 (2H, m) ; 2,90 (2H, t, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 3,53 (2H, t, $J = 6,5 \text{ Hz}$) ; 4,53 (2H, s) ; 7,27-7,42 (5H, m) ; 7,56 (1H, dd, $J_1 = 8,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,0 \text{ Hz}$) ; 7,70 (1H, d, $J = 8,5 \text{ Hz}$) ; 8,86 (1H, s) ; 11,56 (1H, s, NH) ; 11,59 (1H, s, NH) ; 12,68 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 31,5 ; 31,9 ; 68,8 ; 71,9 (CH_2) ; 112,7 ; 124,6 ; 127,3 ; 127,5 (2C) ; 128,2 (2C) ; 130,9 (CH arom) ; 117,8 ; 119,3 ; 119,5 ; 124,2 ; 125,5 ; 131,4 ; 135,0 ; 137,0 ; 138,6 ; 142,6 (C arom) ; 166,4 ; 166,5 ; 168,7 ; 169,3 (C=O).

10-(3-Hydroxypropyl)-1,3,4,6-tétrahydro-2*H*,5*H*,7*H*-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (66)



66

Une solution de composé 65 (30,0 mg ; 0,066 mmol) dans le TFA (4 mL) est chauffée à reflux pendant 48 heures. Après retour à température ambiante, le mélange réactionnel est co-éaporé avec du toluène puis le résidu est repris à l'acétate d'éthyle et filtré sur verre fritté. Le composé 66 (19,1 mg ; 0,053 mmol ; R = 80%) est obtenu sous la forme d'un solide orange.

F > 290 °C

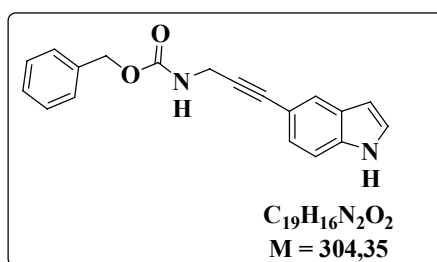
IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1721, 1756, 1773 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3100\text{-}3640 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (ESI+) calculée pour $C_{19}H_{14}N_3O_5$ $[M+H]^+$: 364,0933 ; trouvée : 364,0935.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,11-2,20 (2H, m) ; 2,92 (2H, t, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 4,48 (2H, t, $J = 6,5 \text{ Hz}$) ; 7,58 (1H, dd, $J_1 = 8,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,5 \text{ Hz}$) ; 7,71 (1H, d, $J = 8,5 \text{ Hz}$) ; 8,84 (1H, s) ; 11,55 (1H, se, NH) ; 11,58 (1H, se, NH) ; 12,68 (1H, se, NH). Le signal de l'hydroxyle n'est pas visible.

En raison de son insolubilité dans le DMSO, le spectre de RMN ^{13}C du composé 66 n'a pu être enregistré.

5-(*N*-Benzyloxycarbonyl-3-aminopropynyl)-1*H*-indole (67)



67

Un mélange de 5-iodoindole (100 mg ; 0,411 mmol) et de Cbz-propargylamine (121 mg ; 0,64 mmol) dans l'acétonitrile (1 mL) en présence de triéthylamine (62 μL ; 0,44 mmol), d'iodure de cuivre (4,0

mg ; 0,021 mmol) et de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (14 mg ; 0,012 mmol) est chauffé à reflux pendant 6 heures. Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est hydrolysé puis extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO_4 . Après filtration et évaporation du solvant, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 7:3) ce qui permet d'obtenir le composé **67** (72,3 mg ; 0,238 mmol ; R = 58%) sous la forme d'une huile jaune.

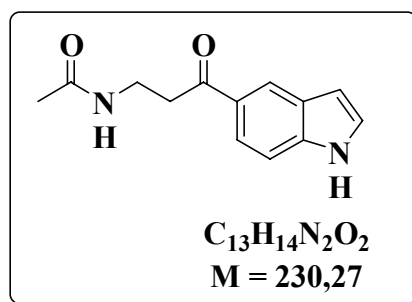
IR (film) : $\nu_{\text{C=O}} = 1650\text{-}1780\text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C}\equiv\text{C}} = 2230\text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3100\text{-}3550\text{ cm}^{-1}$.

Masse (ESI+) m/z : 327 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 4,13 (2H, d, $J = 5,5\text{ Hz}$) ; 5,12 (2H, s) ; 6,47-6,50 (1H, m) ; 7,17 (1H, dd, $J_1 = 8,5\text{ Hz}$, $J_2 = 1,0\text{ Hz}$) ; 7,32-7,46 (7H, m) ; 7,69 (1H, s) ; 7,87 (1H, t, $J = 5,5\text{ Hz}$, NH) ; 11,34 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 30,7 ; 65,6 (CH_2) ; 83,7 ; 84,0 (C_{alcyne}) ; 101,3 ; 111,8 ; 123,7 ; 124,3 ; 126,5 ; 127,9 ; 128,4 (CH arom) ; 112,4 ; 127,5 ; 135,5 ; 137,0 (C arom) ; 156,0 (C=O).

5-(1-Oxo-3-acétamidopropyl)-1H-indole (**68**)



68

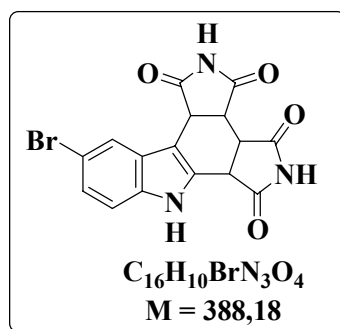
Un mélange du composé **67** (54,1 mg ; 0,178 mmol) et de maléimide (18,1 mg ; 0,186 mmol) dans l'acide acétique (0,5 mL) est chauffé à reflux pendant 6 heures. Après évaporation de l'acide acétique, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 7:3 à 1:9) ce qui conduit à l'obtention du composé **68** (12,8 mg ; 0,056 mmol ; R = 31%).

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 1,82 (3H, s, CH_3) ; 3,24 (2H, t, $J = 6,5\text{ Hz}$) ; 3,40-3,46 (2H, m) ; 6,63-6,66 (1H, m) ; 7,49-7,53 (2H, m) ; 7,77 (1H, dd, $J_1 = 8,5\text{ Hz}$, $J_2 = 1,5\text{ Hz}$) ; 7,97 (1H, t, $J = 5,0\text{ Hz}$, NH) ; 8,34 (1H, d, $J = 1,0\text{ Hz}$) ; 11,51 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 22,6 (CH_3) ; 34,6 ; 37,7 (CH_2) ; 103,0 ; 111,3 ; 120,8 ; 122,1 ; 127,2

(CH arom) ; 127,1 ; 128,5 ; 138,5 (C arom) ; 169,2 ; 198,0 (C=O).

10-Bromo-1,3,3a,3b,4,6,6a,11c-octahydro-2*H*,5*H*,7*H*-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (69**)**



69

Un mélange du composé **19** (500 mg ; 1,72 mmol) et de maléimide (200 mg ; 2,06 mmol) dans le *p*-xylène (29 mL) est porté à reflux pendant 60 heures. Après retour à température ambiante, le mélange est filtré et le solide est lavé au *p*-xylène puis séché ce qui permet d'obtenir le composé **69** (615 mg ; 1,58 mmol ; R = 92%) sous la forme d'un solide jaune.

F > 300°C

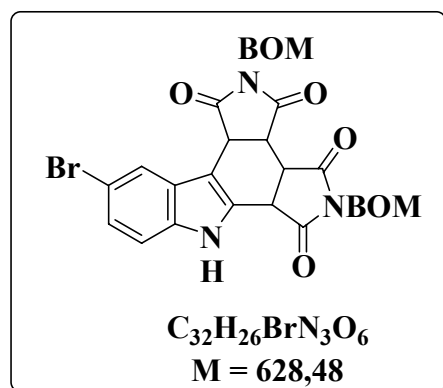
IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}} = 1723, 1775 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3120\text{-}3600 \text{ cm}^{-1}$.

Masse (ESI+) m/z : 410, 412 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 3,76 (1H, t, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 3,89 (1H, t, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 4,28 (1H, dd, $J_1 = 7,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 2,0 \text{ Hz}$) ; 4,37 (1H, dd, $J_1 = 8,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 2,0 \text{ Hz}$) ; 7,26 (1H, dd, $J_1 = 8,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 2,0 \text{ Hz}$) ; 7,39 (1H, d, $J = 8,5 \text{ Hz}$) ; 7,95 (1H, d, $J = 2,0 \text{ Hz}$) ; 11,18 (1H, s, NH) ; 11,43 (1H, s, NH) ; 11,57 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 39,8 ; 40,0 ; 40,6 (CH) ; 113, 5 ; 122,4 ; 124,3 (CH arom) ; 103,5 ; 111,6 ; 127,3 ; 129,2 ; 135,7 (C arom) ; 175,9 ; 177,1 ; 177,2 ; 177,3 (C=O).

10-Bromo-2,5-dibenzyloxyméthyl-1,3,3a,3b,4,6,6a,11c-octahydro-7H-dipyrrolo[3,4-a:3,4-c]carbazole-1,3,4,6-tétraone (70)



70

A une solution de composé **69** (700 mg ; 1,80 mmol) dans l'acétone anhydre (9 mL) est ajoutée goutte à goutte la diisopropyléthylamine (1,25 mL ; 7,2 mmol ; 4 équiv.). Après 30 minutes d'agitation à température ambiante, le chlorométhylbenzyléther (~60% RMN Fluka ; 625 μL ; 2,70 mmol) est ajouté lentement (2 minutes). Le milieu réactionnel est agité pendant 1h30 puis hydrolysé à l'eau et extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO_4 . Après filtration et évaporation du solvant, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution : cyclohexane/acétate d'éthyle 8:2 à 6:4) ce qui conduit à l'obtention d'une huile orange. Une précipitation au CHCl_3 puis une filtration sur verre fritté permet de récupérer le composé **70** (687 mg ; 1,09 mmol ; R = 81%) sous la forme d'un solide blanc.

F = 134°C

IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}} = 1711, 1789 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3190\text{-}3500 \text{ cm}^{-1}$.

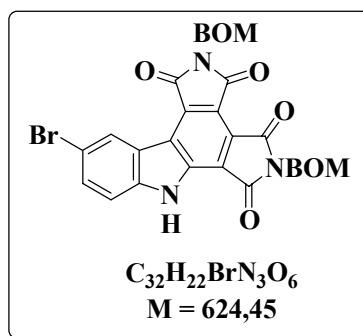
Masse. (IC+) m/z : 628, 630 $[\text{M}+\text{H}]^+$

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 4,00 (1H, dd, $J_1 = 8,0$, $J_2 = 7,5$ Hz) ; 4,12 (1H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 4,28 (1H, d, $J = 11,5$ Hz) ; 4,31 (1H, d, $J = 11,5$ Hz) ; 4,44-4,51 (3H, m) ; 4,58 (1H, dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz) ; 4,82 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 4,88 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 4,93 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 4,95 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 7,03-7,07 (2H, m) ; 7,19-7,23 (2H, m) ; 7,25-7,33 (7H, m) ; 7,41 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 8,01 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) ; 11,73 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 38,8 (2C) ; 39,6 ; 39,8 (CH) ; 67,2 ; 67,5 ; 70,4 ; 70,6 (CH_2) ; 113,6 ; 122,2 ; 124,6 ; 127,5-128,1 (CH arom) 103,2 ; 111,8 ; 127,2 ; 128,7 ; 135,8 ; 137,2 ; 137,3 (C arom) ;

174,4 ; 175,5 ; 175,9 ; 176,0 (C=O).

10-Bromo-2,5-dibenzyloxyméthyl-1,3,4,6-tétrahydro-7H-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (71**)**



Un mélange de composé **70** (665 mg ; 1,06 mmol) et de DDQ (505 mg ; 2,22 mmol) dans le dioxane (17 mL) est chauffé à reflux pendant 3 jours. Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est évaporé, le résidu repris à l'eau, filtré sur verre fritté puis lavé à l'eau et à l'acétate d'éthyle. Le composé **71** (644 mg ; 1,03 mmol ; R = 97%) est obtenu sous la forme d'un solide jaune.

F = 227-233°C

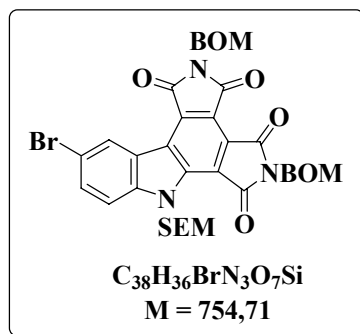
IR (KBr) : $\nu_{C=O}$ = 1720, 1779 cm^{-1} ; ν_{NH} = 3115-3330 cm^{-1} .

Masse (ESI+) m/z : 646, 648 $[M+Na]^+$

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 4,70 (2H, s) ; 4,71 (2H, s) ; 5,22 (2H, s) ; 5,26 (2H, s) ; 7,25-7,43 (10H, m) ; 7,77 (1H, d, J = 8,5 Hz) ; 7,89 (1H, dd, J_1 = 8,5 Hz, J_2 = 2,0 Hz) ; 9,15 (1H, d, J = 1,5 Hz) ; 13,12 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 66,9 ; 67,1 ; 70,4 ; 70,6 (CH_2) ; 115,0 ; 127,3-127,6 ; 128,2 ; 132,8 (CH arom) ; 113,8 ; 117,4 ; 118,5 ; 120,9 ; 123,3 ; 125,2 ; 130,7 ; 137,0 ; 137,6 ; 137,7 ; 142,9 (C arom) ; 164,4 ; 164,5 ; 166,7 ; 167,4 (C=O).

10-Bromo-2,5-dibenzyloxyméthyl-7-[2-(triméthylsilyl)éthoxyméthyl]-1,3,5,7-tétrahydro-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,5,7-tétraone (72)



72

A une solution du composé 71 (200 mg ; 0,32 mmol) dans le THF (2,9 mL) et le DMF (480 μ L) refroidie à 0°C est ajouté le NaH (suspension à 60% dans l'huile minérale ; 20,0 mg ; 0,50 mmol). Le mélange est agité à 0°C pendant 15 min puis le SEMCl est ajouté (86 μ L ; 0,49 mmol). Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est agité pendant 3 heures, hydrolysé avec une solution aqueuse 0,2 M d'HCl puis extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO₄. Après filtration et évaporation du solvant, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 8:2) ce qui permet d'obtenir le composé 72 (186 mg ; 0,25 mmol ; R = 77%) sous la forme d'un solide orangé.

F = 185-186°C

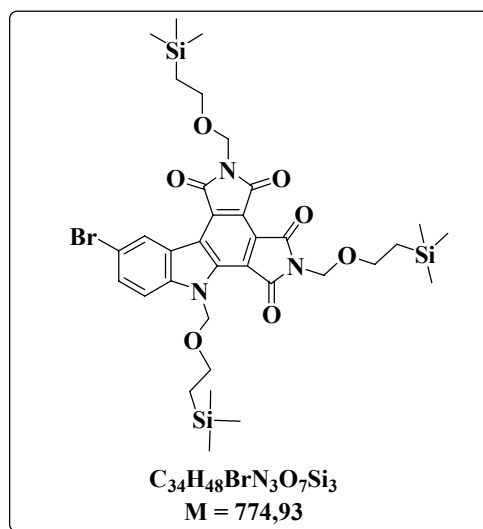
IR (KBr) : $\nu_{C=O}$ = 1725, 1770, 1785 cm^{-1} .

Masse (ESI+) m/z : 776, 778 [M+Na]⁺

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : -0,10 (9H, s) ; 0,89 (2H, t, J = 8,0 Hz) ; 3,60 (2H, t, J = 8,0 Hz) ; 4,75 (4H, s) ; 5,34 (2H, s) ; 5,36 (2H, s) ; 6,50 (2H, s) ; 7,18-7,44 (10H, m) ; 7,61 (1H, d, J = 8,5 Hz) ; 7,79 (1H, d, J = 8,5 Hz) ; 9,36 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : -1,4 (CH₃) ; 18,0 ; 66,3 ; 67,5 ; 67,6 ; 72,1 ; 72,2 ; 76,0 (CH₂) ; 113,1 ; 127,8-127,9 ; 128,4 ; 128,5 ; 129,2 ; 133,8 (CH arom) ; 116,5 ; 117,9 ; 119,9 ; 122,2 ; 125,8 ; 127,0 ; 131,1 ; 137,3 ; 137,4 ; 139,7 ; 142,9 (C arom) ; 164,2 (2C) ; 166,4 ; 166,9 (C=O).

10-Bromo-2,5,7-tri-[2-(triméthylsilyl)éthoxyméthyl]-1,3,5,7-tétrahydro-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,5,7-tétraone (73)



73

A une solution de composé 28 (48,5 mg ; 0,126 mmol) dans le DMF (2,8 mL) refroidie à 0°C est ajouté le NaH (suspension à 60% dans l'huile minérale ; 16,5 mg ; 0,413 mmol). Le mélange est agité à 0°C pendant 15 min puis le SEMCl est ajouté (74 µL ; 0,418 mmol). Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est agité pendant 2 heures, hydrolysé avec une solution aqueuse 0,2 M d'HCl. puis extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO₄. Après filtration et évaporation du solvant, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 9:1) ce qui permet d'obtenir le composé 73 (72,3 mg ; 0,093 mmol ; R = 74%) sous la forme d'un solide jaune orangé.

F = 206 °C

IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}} = 1725, 1785 \text{ cm}^{-1}$.

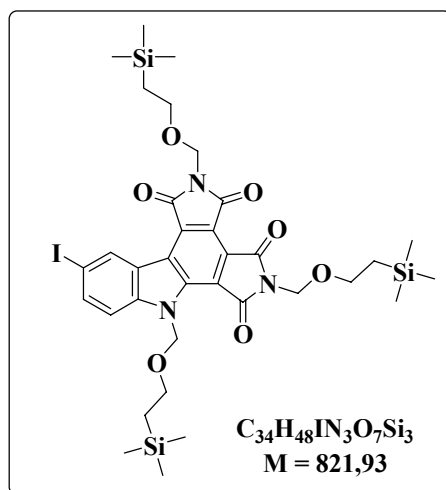
Masse (ESI+) m/z : 796, 798 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : -0,10 (9H, s) ; 0,02 (18H, s) ; 0,87 (2H, t, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 0,99 (2H, t, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 1,00 (2H, t, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 3,60 (2H, t, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 3,71-3,77 (4H, m) ; 5,24 (2H, s) ; 5,27 (2H, s) ; 6,54 (2H, s) ; 7,63 (1H, d, $J = 9,0 \text{ Hz}$) ; 7,81 (1H, dd, $J_1 = 9,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 2,0 \text{ Hz}$) ; 9,43 (1H, d, $J = 2,0 \text{ Hz}$).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : -1,4 ; -1,3 (CH₃) ; 18,0 ; 18,1 ; 66,2 ; 67,4 ; 67,5 ; 67,7 ; 67,8 ; 76,0 (CH₂) ; 113,1 ; 129,1 ; 133,7 (CH arom) ; 116,4 ; 117,8 ; 119,9 ; 122,1 ; 125,6 ; 127,0 ; 131,0 ; 139,6 ;

142,7 (C arom) ; 164,0 (2C) ; 166,5 ; 167,0 (C=O).

10-Iodo-1,3,4,6-tétrahydro-2,5,7-tri-(triméthylsilyléthoxyméthyl)-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (74)



74

A une solution de composé **30** (50 mg ; 0,116 mmol) dans le DMF (2,6 mL) refroidie à 0°C est ajouté le NaH (suspension à 60% dans l'huile minérale ; 15,3 mg ; 0,383 mmol). Le mélange est agité à 0°C pendant 15 min puis le SEMCl est ajouté (67,7 μ L ; 0,383 mmol). Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est agité pendant 2 heures, hydrolysé avec une solution aqueuse 0,2 M d'HCl puis extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO₄. Après filtration et évaporation du solvant, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 9:1) ce qui permet d'obtenir le composé **74** (75,4 mg ; 0,092 mmol ; R = 79%) sous la forme d'un solide jaune-orangé.

F = 199 °C

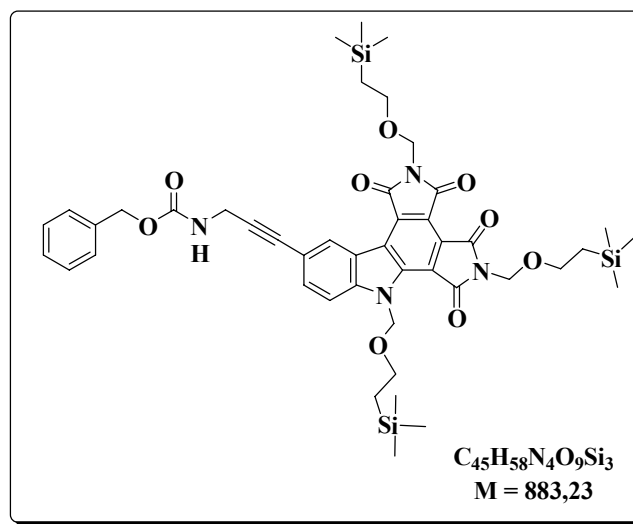
IR (KBr) : $\nu_{C=O}$ = 1722, 1783 cm⁻¹.

Masse (ESI+) m/z : 844 [M+Na]⁺

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : -0,10 (9H, s) ; 0,01 (9H, s) ; 0,02 (9H, s) ; 0,87 (2H, t, J = 8,0 Hz) ; 0,98 (2H, t, J = 7,5 Hz) ; 1,00 (2H, t, J = 8,0 Hz) ; 3,60 (2H, t, J = 8,0 Hz) ; 3,73 (2H, t, J = 8,0 Hz) ; 3,74 (2H, t, J = 8,5 Hz) ; 5,24 (2H, s) ; 5,27 (2H, s) ; 6,54 (2H, s) ; 7,53 (1H, d, J = 8,5 Hz) ; 7,99 (1H, dd, J_1 = 8,5 Hz, J_2 = 1,5 Hz) ; 9,66 (1H, d, J = 1,5 Hz).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : -1,4 ; -1,3 (CH_3) ; 18,0 ; 18,1 ; 66,3 ; 67,5 ; 67,6 ; 67,7 ; 67,8 ; 76,0 (CH_2) ; 86,7 ; 117,9 ; 120,1 ; 122,9 ; 125,7 ; 127,1 ; 131,2 ; 139,6 ; 143,5 (C arom) ; 113,5 ; 135,5 ; 139,3 (CH arom) ; 164,2 (2C) ; 166,6 ; 167,1 (C=O).

10-(*N*-benzyloxycarbonyl-3-aminopropargyl)-1,3,4,6-tétrahydro-2,5,7-tri-(triméthylsilyléthoxyméthyl)-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (75**)**



75

Un mélange du composé **74** (50 mg ; 0,061 mmol), de Cbz-propargylamine (18,0 mg ; 0,95 mmol), d'iodure de cuivre (4,0 mg ; 0,021 mmol) de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (3,5 mg ; 0,0030 mmol ; 5 mol%) et de triéthylamine (30 μL ; 0,22 mmol) dans l'acétonitrile (1 mL) est chauffé à reflux sous argon pendant 2h30. Après évaporation du milieu réactionnel, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 7:3) ce qui permet d'obtenir le composé **75** (54 mg ; 0,061 mmol ; R = 100%) sous forme d'un solide orange.

F = 208-218 °C

IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}} = 1722, 1783 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3270\text{-}3580 \text{ cm}^{-1}$.

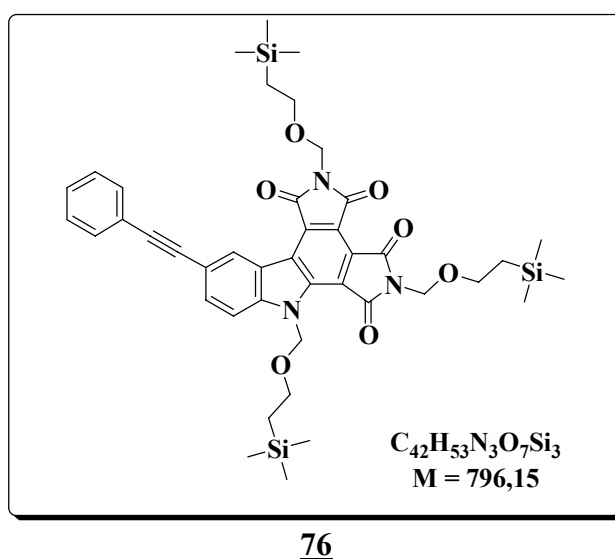
Masse (ESI+) m/z : 905 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : -0,10 (9H, s) ; 0,01 (9H, s) ; 0,03 (9H, s) ; 0,88 (2H, t, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 1,00 (2H, t, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 1,01 (2H, t, $J = 8,5 \text{ Hz}$) ; 3,59 (2H, t, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 3,74 (2H, t, $J = 8,5 \text{ Hz}$) ; 3,76 (2H, t, $J = 8,5 \text{ Hz}$) ; 4,31 (2H, d, $J = 5,5 \text{ Hz}$) ; 5,21 (2H, s) ; 5,24 (2H, s) ; 5,28 (2H, s) ; 5,53 (1H, m, NH) ; 6,41 (2H, s) ; 7,31-7,46 (5H, m) ; 7,54 (1H, d, $J = 8,5 \text{ Hz}$) ; 7,57 (1H, d, $J = 8,5 \text{ Hz}$) ; 9,03 (1H,

s).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : -1,4 ; -1,3 (CH_3) ; 18,1 ; 18,2 ; 31,8 ; 66,2 ; 67,1 ; 67,5 ; 67,6 ; 67,8 ; 75,8 (CH_2) ; 82,8 ; 85,8 (C_{alcyne}) ; 117,7 ; 117,8 ; 120,2 ; 120,5 ; 126,2 ; 127,0 ; 131,1 ; 136,6 ; 139,7 ; 143,3 (C arom) ; 111,4 ; 128,2 (3C) ; 128,6 (2C) ; 129,9 ; 133,6 (CH arom) ; 156,2 ; 164,3 (2C) ; 166,5 ; 167,1 (C=O).

10-(2-phényléthynyl)-1,3,4,6-tétrahydro-2,5,7-tri-(triméthylsilyléthoxyméthyl)-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (76)



Un mélange du composé 74 (50 mg ; 0,061 mmol), de phénylacétylène (10,5 μL ; 0,096 mmol), d'iodure de cuivre (2,0 mg ; 0,011 mmol) de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (3,5 mg ; 0,0030 mmol) et de triéthylamine (30 μL , 0,22 mmol) dans l'acétonitrile (1 mL) est chauffé à reflux sous argon pendant 4 heures. Après évaporation du milieu réactionnel, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 9:1) ce qui permet d'obtenir le composé 76 sous la forme d'un solide marron clair (48,6 mg ; 0,061 mmol ; R = 100%).

F : 153-155 $^{\circ}\text{C}$

IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}}$ = 1725, 1770, 1785 cm^{-1} .

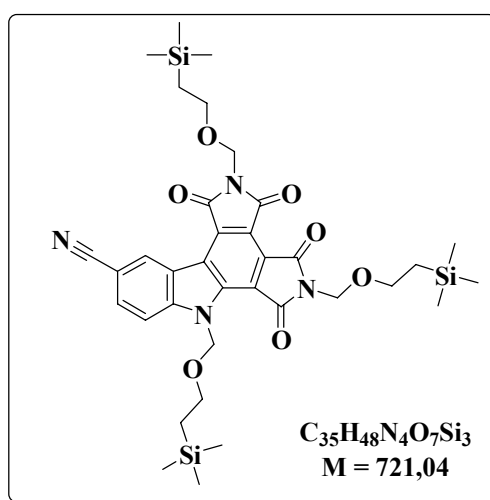
Masse (ESI+) m/z : 818 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : -0,07 (9H, s) ; 0,04 (18H, 2s) ; 0,90 (2H, t, J = 8,0 Hz) ; 1,00 (2H, t, J = 8,0 Hz) ; 1,02 (2H, t, J = 8,5 Hz) ; 3,66 (2H, t, J = 8,0 Hz) ; 3,78 (2H, t, J = 8,5 Hz) ; 3,80 (2H, t, J =

8,5 Hz) ; 5,23 (2H, s) ; 5,29 (2H, s) ; 6,59 (2H, s) ; 7,35-7,42 (3H, m) ; 7,60-7,64 (2H, m) ; 7,74 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,88 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 9,52 (1H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : -1,4 ; -1,3 (CH_3) ; 18,1 (2C) ; 18,2 ; 66,2 ; 67,3 ; 67,5 ; 67,7 ; 76,0 (CH_2) ; 89,2 ; 89,7 (C_{alcyne}) ; 111,7 ; 128,5 ; 129,9 ; 131,8 ; 134,0 (CH arom) ; 117,9 ; 118,3 ; 120,0 ; 120,8 ; 123,1 ; 126,5 ; 126,9 ; 130,9 ; 140,0 ; 143,6 (C arom) ; 164,1 ; 164,2 ; 166,5 ; 167,1 ($\text{C}=\text{O}$).

10-Cyano-1,3,4,6-tétrahydro-2,5,7-tri-(triméthylsilyléthoxyméthyl)-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (77)



77

Un mélange du composé 74 (20 mg ; 0,024 mmol), de KCN (1,7 mg ; 0,026 mmol ; 1,1 équiv.), d'iodure de cuivre (1,0 mg ; 5,3 μmol) et de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (1,4 mg ; 1,2 μmol) est placé pendant 30 minutes sous argon puis du THF (1 mL) dans lequel de l'argon a bullé pendant 30 min est ajouté. Le mélange réactionnel est alors chauffé à reflux sous argon pendant 3 heures. Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est filtré sur Célite. Après évaporation du filtrat, de l'eau est ajoutée et le mélange est extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO_4 , filtrée puis évaporée. La purification du brut réactionnel par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 9:1 à 7:3) conduit à l'obtention du composé 77 (14,6 mg ; 0,020 mmol ; $R = 84\%$) sous la forme d'un solide jaune.

$F = 238\text{ }^\circ\text{C}$

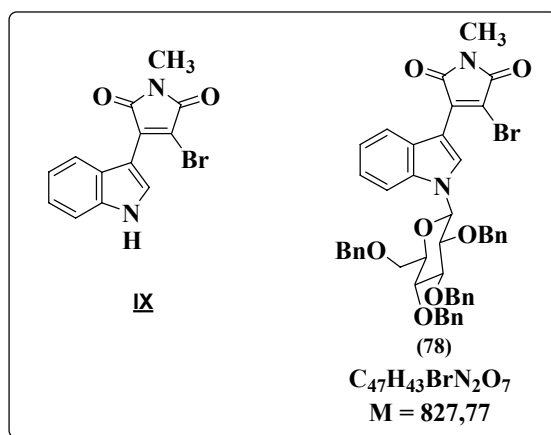
IR (KBr) : $\nu_{\text{C}=\text{O}} = 1722, 1783\text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C}\equiv\text{N}} = 2226\text{ cm}^{-1}$.

Masse (IC+) m/z : 743 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : -0,09 (9H, s) ; 0,01 (9H, s) ; 0,02 (9H, s) ; 0,89 (2H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 0,96-1,03 (4H, m) ; 3,64 (2H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 3,73 (2H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 3,75 (2H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 5,25 (2H, s) ; 5,28 (2H, s) ; 6,62 (2H, s) ; 7,87 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,97 (1H, dd, $J_1 = 8,5$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz) ; 9,72 (1H, d, $J = 1,0$ Hz).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : -1,4 ; -1,3 (CH_3) ; 18,0 ; 18,1 (2C) ; 66,5 ; 67,5 ; 67,6 ; 67,8 ; 67,9 ; 76,3 (CH_2) ; 107,0 ; 118,7 ; 118,9 ; 120,9 ; 121,0 ; 125,9 ; 127,8 ; 131,8 ; 140,3 ; 145,8 (C arom et $\text{C}\equiv\text{N}$) ; 112,9 ; 132,1 ; 133,4 (CH arom) ; 163,8 ; 163,9 ; 166,3 ; 166,9 ($\text{C}=\text{O}$).

3-(3-Bromo-2,5-dihydro-1-méthyl-2,5-dioxo-pyrrol-4-yl)-1-(1-déoxy-2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- β -D-glucopyranos-1-yl)-indole (78**)**



78

Une solution de composé **IX** (50 mg ; 0,164 mmol), de PPh_3 (129 mg ; 0,49 mmol ; 3 équiv.) et de 2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl-D-glucopyranose (266 mg ; 0,49 mmol ; 3 équiv.) dans le THF anhydre (3,2 mL) est refroidie à -78°C . Le DIAD (95 μl) est alors additionné goutte à goutte. Le milieu réactionnel est agité pendant 5 heures, en laissant réchauffer à température ambiante. Une solution d' HCl 0,2 M est ajoutée (40 mL) et le mélange est extrait avec de l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée successivement avec une solution aqueuse saturée en NaHCO_3 et de l'eau, puis séchée sur MgSO_4 . Après filtration et évaporation du solvant, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (toluène/acétate d'éthyle 50:1) ce qui conduit à l'obtention du composé **78** sous la forme d'un solide amorphe rouge (128 mg ; 0,155 mmol ; $R = 94\%$).

$F = 55^\circ\text{C}$

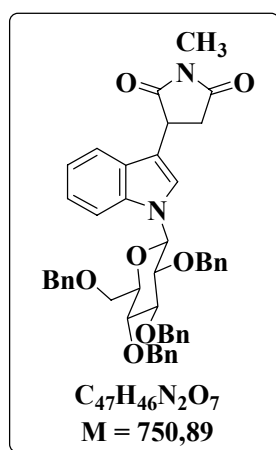
IR (KBr) : $\nu_{\text{C}=\text{C}} = 1615\text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C}=\text{O}} = 1710, 1770\text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (FAB+) calculée pour $C_{47}H_{43}N_2O_7Br$ $[M]^+$: 826,2254 ; trouvée : 826,2265.

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) : 3,20 (3H, s) ; 3,67 (1H, d, $J = 10,5$ Hz) ; 3,74-3,82 (2H, m) ; 3,85-3,92 (2H, m) ; 3,97 (1H, t, $J = 9,5$ Hz) ; 4,06 (1H, t, $J = 9,0$ Hz) ; 4,28 (1H, d, $J = 10,5$ Hz) ; 4,55 (1H, d, $J = 12,0$ Hz) ; 4,63 (1H, d, $J = 12,0$ Hz) ; 4,71 (1H, d, $J = 10,5$ Hz) ; 4,93 (1H, d, $J = 10,5$ Hz) ; 4,94 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 4,98 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 5,45 (1H, d, $J = 9,0$ Hz) ; 6,71 (2H, d, $J = 7,5$ Hz) ; 7,07 (2H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,13 (1H, m) ; 7,23-7,40 (17H, m) ; 7,67 (1H, m) ; 8,05-8,09 (2H, m).

RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) : 24,9 (CH_3) ; 68,5 ; 73,6 ; 75,1 ; 75,4 ; 75,9 (CH_2) ; 77,5 ; 78,1 ; 80,8 ; 85,5 ; 86,9 (CH) ; 112,3 ; 121,9 ; 123,4 ; 123,6 ; 127,5-128,6 ; 131,4 (CH) ; 105,6 ; 115,8 ; 126,1 ; 136,1 ; 136,7 ; 137,3 ; 137,9 ; 138,1 ; 138,3 (C quat) ; 166,8 ; 169,3 (C=O).

1-(1-Déoxy-2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- β -D-glucopyranos-1-yl)- 3-(1-méthyl-2,5-dioxo-pyrrolidin-3-yl)-indole (79**)**



79

Une solution du composé **78** (344 mg ; 0,416 mmol) dans du méthanol (11,5 mL) et du THF anhydre (4 mL) est hydrogénée (1 atm) pendant 3 heures en présence de charbon palladié à 10% (34 mg) et de pyridine (39 μ L ; 0,48 mmol). Après filtration sur Célite et évaporation du filtrat, la purification du brut réactionnel par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 8:2) conduit à l'obtention du composé **79** sous la forme d'un solide orange clair (191 mg ; 0,254 mmol ; R = 61%).

Masse (ESI+) m/z : 751 $[M+H]^+$, 773 $[M+Na]^+$

IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1705, 1775\text{ cm}^{-1}$.

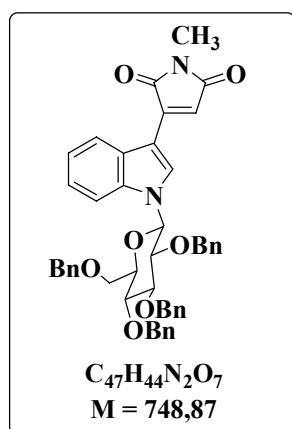
mélange de 2 diastéréoisomères (rapport 0,69/1) mesuré à partir des signaux à 3,47 et 3,50 ppm.

diastéréoisomère majoritaire : a ; diastéréoisomère minoritaire : b

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : 2,86 (1H^a , dd, $J_1 = 18,5$ Hz, $J_2 = 5,0$ Hz) ; 2,92 (1H^b , dd, $J_1 = 18,5$ Hz, $J_2 = 5,0$ Hz) ; 3,10 (3H^b , s) ; 3,11 (3H^a , s) ; 3,27 (1H^b , dd, $J_1 = 18,5$ Hz, $J_2 = 9,5$ Hz) ; 3,29 (1H^a , dd, $J_1 = 18,5$ Hz, $J_2 = 9,5$ Hz) ; 3,47 (1H^a , d, $J = 10,0$ Hz) ; 3,50 (1H^b , d, $J = 10,0$ Hz) ; 3,69-3,74 (1H^{a+b} , m) ; 3,75-3,87 (3H^{a+b} , m) ; 3,92 (1H^{a+b} , t, $J = 9,5$ Hz) ; 3,97 (1H^b , t, $J = 9,0$ Hz) ; 3,98 (1H^a , t, $J = 9,0$ Hz) ; 4,16 (1H^b , d, $J = 10,5$ Hz) ; 4,19 (1H^a , d, $J = 10,0$ Hz) ; 4,29-4,35 (1H^{a+b} , m) ; 4,54 (1H^{a+b} , d, $J = 12,0$ Hz) ; 4,62 (1H^a , d, $J = 12,0$ Hz) ; 4,62 (1H^b , d, $J = 12,0$ Hz) ; 4,68 (1H^{a+b} , d, $J = 10,5$ Hz) ; 4,88-4,98 (3H^{a+b} , m) ; 5,35 (1H^{a+b} , d, $J = 9,0$ Hz) ; 6,69-6,75 (2H^{a+b} , m) ; 7,07-7,38 (21H^{a+b} , m) ; 7,45-7,50 (1H^{a+b} , m) ; 7,59-7,63 (1H^{a+b} , m).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : 25,2 (CH_3) ; 36,3 ; 36,6 ; 68,6 ; 73,5 ; 74,6 ; 74,7 ; 75,3 ; 75,8 (CH_2) ; 38,0 ; 38,1 ; 77,5 ; 77,9 ; 81,0 ; 81,1 ; 85,4 ; 86,5 (CH) ; 112,1 ; 119,0 ; 119,1 ; 120,8 ; 123,0 ; 123,8 ; 123,9 ; 127,7-128,5 (CH arom) ; 112,0 ; 112,1 ; 127,2 ; 127,3 ; 136,3 ; 136,4 ; 137,0 ; 138,0 ; 138,1 ; 138,4 (C quat arom) ; 176,3 ; 176,4 ; 177,7 ; 177,8 ($\text{C}=\text{O}$).

1-(1-Déoxy-2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- β -D-glucopyranos-1-yl)-3-(2,5-dihydro-1-méthyl-2,5-dioxo-pyrrol-3-yl)-indole (80**)**



80

Une solution de DDQ (21,7 mg ; 0,096 mmol ; 1,1 équiv.) dans le dioxane (1 mL) est additionnée lentement à une solution du composé **79** (65,2 mg ; 0,087 mmol) dans le dioxane (1 mL). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante une nuit, puis filtré sur verre fritté. Le filtrat est évaporé sous pression réduite. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 9:1) ce qui permet d'obtenir le composé **80** (40,4 mg ; 0,054 mmol ; R = 62%) sous la forme d'un solide jaune.

F = 97-103 °C

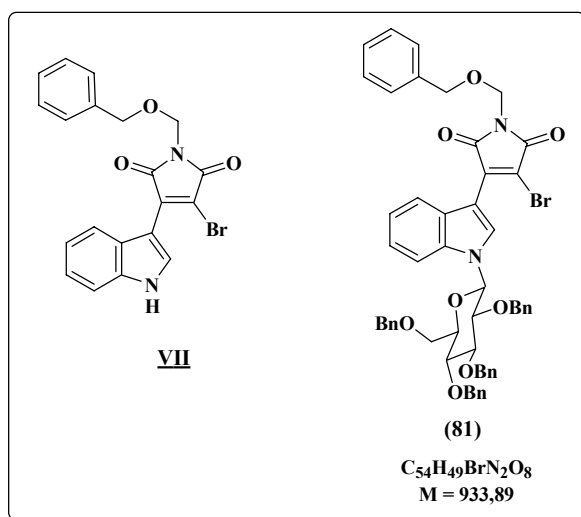
Masse (ESI+) m/z : 749 $[M+H]^+$

IR (KBr) : $\nu_{C=C}$ = 1617 cm^{-1} ; $\nu_{C=O}$ = 1703, 1765 cm^{-1} .

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : 3,11 (3H, s) ; 3,65 (1H, d, J = 10,5 Hz) ; 3,72-3,80 (2H, m) ; 3,83 (1H, dd, J_1 = 11,0 Hz, J_2 = 4,0 Hz) ; 3,86 (1H, t, J = 9,0 Hz) ; 3,93 (1H, t, J = 9,0 Hz) ; 4,00 (1H, t, J = 9,0 Hz) ; 4,25 (1H, d, J = 10,5 Hz) ; 4,54 (1H, d, J = 12,0 Hz) ; 4,60 (1H, d, J = 12,0 Hz) ; 4,68 (1H, d, J = 10,5 Hz) ; 4,89-4,96 (3H, m) ; 5,42 (1H, d, J = 9,0 Hz) ; 6,66-6,70 (3H, m) ; 7,03 (2H, t, J = 7,5 Hz) ; 7,08-7,13 (1H, m) ; 7,21-7,36 (17H, m) ; 7,66 (1H, d, J = 8,0 Hz) ; 7,80 (1H, d, J = 8,0 Hz) ; 8,51 (1H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : 23,8 (CH_3) ; 68,6 ; 73,6 ; 75,0 ; 75,4 ; 75,8 (CH_2) ; 77,5 ; 78,1 ; 80,8 ; 85,5 ; 86,8 (CH sucre) ; 112,8 ; 116,0 ; 120,6 ; 122,7 ; 123,8 ; 127,7-128,6 ; 131,8 (CH) ; 106,8 ; 127,2 ; 136,3 ; 136,7 ; 137,9 ; 138,1 ; 138,3 ; 139,0 (C quat) ; 171,8 ; 172,3 (C=O).

3-(1-Benzyloxyméthyl-3-bromo-2,5-dihydro-2,5-dioxo-pyrrol-4-yl)-1-(1-déoxy-2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- β -D-glucopyranos-1-yl)-indole (81**)**



Une solution de composé **VII** (302 mg ; 0,73 mmol), de PPh_3 (578 mg ; 2,20 mmol) et de 2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl-D-glucopyranose (1,19 g ; 2,20 mmol) dans le THF anhydre (13,5 mL) est refroidie à -78°C . Le DIAD (427 μL) est alors additionné goutte à goutte. Le milieu réactionnel est agité pendant 3 heures, en laissant revenir à température ambiante. Une solution d' HCl 0,2 M est ajoutée (150 mL) et le mélange est extrait avec de l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée successivement avec une solution aqueuse saturée en NaHCO_3 , de l'eau, une solution aqueuse saturée

en NaCl, puis séchée sur MgSO₄. Après filtration et évaporation du solvant, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (toluène/acétate d'éthyle 50:1 puis 50:2) ce qui conduit à l'obtention du composé **81** sous la forme d'un solide amorphe orange (632 mg ; 0,68 mmol ; R = 92%).

F = 40 °C

Masse (ESI+) *m/z* : 955, 957 [M+Na]⁺

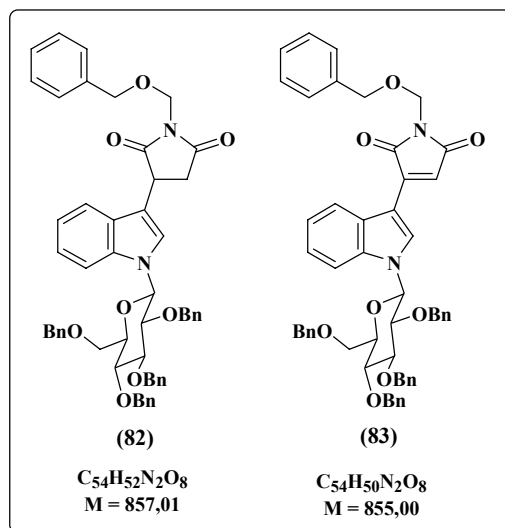
IR (film, NaCl) : $\nu_{\text{C=O}}$ = 1725, 1780 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 3,64 (1H, d, *J* = 10,5 Hz) ; 3,72-3,80 (2H, m) ; 3,83-3,90 (2H, m) ; 3,96 (1H, t, *J* = 9,5 Hz) ; 4,03 (1H, t, *J* = 9,0 Hz) ; 4,26 (1H, d, *J* = 10,5 Hz) ; 4,54 (1H, d, *J* = 12,0 Hz) ; 4,61 (1H, d, *J* = 12,0 Hz) ; 4,69 (2H, s) ; 4,69 (1H, d, *J* = 10,5 Hz) ; 4,89-4,97 (3H, m) ; 5,19 (2H, s) ; 5,43 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 6,67-6,71 (2H, m) ; 7,02-7,13 (3H, m) ; 7,22-7,40 (22H, m) ; 7,65 (1H, m) ; 8,03 (1H, m) ; 8,04 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 67,7 ; 68,5 ; 71,9 ; 73,6 ; 75,1 ; 75,4 ; 75,9 (CH₂) ; 77,5 ; 78,1 ; 80,8 ; 85,4 ; 86,8 (CH) ; 112,4 ; 122,0 ; 123,5 ; 123,7 ; 127,6-128,7 ; 131,7 (CH) ; 105,3 ; 116,1 ; 126,0 ; 136,1 ; 136,6 ; 137,4 ; 137,5 ; 137,9 ; 138,1 ; 138,3 (C quat) ; 166,3 ; 168,8 (C=O).

3-(1-Benzyloxyméthyl-2,5-dioxo-pyrrolidin-3-yl)-1-(1-déoxy-2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- β -D-glucopyranos-1-yl)-indole (82**)**

3-(1-Benzyloxyméthyl-2,5-dihydro-2,5-dioxo-pyrrol-3-yl)-1-(1-déoxy-2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- β -D-glucopyranos-1-yl)-indole (83**)**



Une solution du composé **81** (559 mg ; 0,60 mmol) dans du méthanol (16,6 mL) et du THF anhydre (6 mL) est hydrogénée (1 atm) pendant 8 heures en présence de charbon palladié à 10% (56 mg) et de pyridine (56 μ L ; 0,69 mmol). Après filtration sur Célite et évaporation du filtrat, la purification du brut réactionnel par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 8:2) conduit à l'obtention du composé **82** sous la forme d'un solide orange (296 mg ; 0,345 mmol ; R = 58%). Le composé **83** est également obtenu en mélange avec le produit de départ **81** (117 mg contenant 15% de **81** (détermination par RMN)).

IR (KBr) : $\nu_{C=O}$ = 1715, 1780 cm^{-1} .

Masse (ESI+) m/z : 879 [M+Na]⁺, 895 [M+K]⁺

Mélange de 2 diastéréoisomères (rapport 0,82/1 mesuré à partir des signaux à 2,85 et 2,92 ppm).

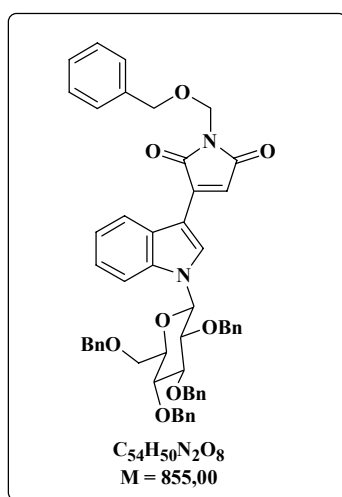
diastéréoisomère majoritaire : a ; diastéréoisomère minoritaire : b

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 2,85 (1H^a, dd, J_1 = 18,5 Hz, J_2 = 5,5 Hz) ; 2,92 (1H^b, dd, J_1 = 18,5 Hz, J_2 = 5,5 Hz) ; 3,19 (1H^b, dd, J_1 = 18,5 Hz, J_2 = 9,5 Hz) ; 3,21 (1H^a, dd, J_1 = 18,5 Hz, J_2 = 9,5 Hz) ; 3,51 (1H^a, d, J = 10,0 Hz) ; 3,52 (1H^b, d, J = 10,5 Hz) ; 3,72-3,77 (1H^{a+b}, m) ; 3,78-3,83 (1H^{a+b}, m) ; 3,84-3,91 (2H^{a+b}, m) ; 3,95 (1H^{a+b}, t, J = 9,0 Hz) ; 4,00 (1H^b, t, J = 9,0 Hz) ; 4,01 (1H^a, t, J = 9,0 Hz) ; 4,16-4,25 (2H^{a+b}, m) ; 4,56 (1H^a, d, J = 12,0 Hz) ; 4,57 (1H^b, d, J = 12,0 Hz) ; 4,64 (1H^a, d, J = 12,0

Hz) ; 4,65 (1H^b, d, $J = 12,0$ Hz) ; 4,68-4,75 (3H^{a+b}, m) ; 4,92-5,02 (3H^{a+b}, m) ; 5,15 (2H^b, s) ; 5,16 (2H^a, s) ; 5,37 (1H^{a+b}, d, $J = 9,0$ Hz) ; 6,72-6,76 (2H^{a+b}, m) ; 7,10-7,43 (26H^{a+b}, m) ; 7,48-7,52 (1H^{a+b}, m) ; 7,62-7,66 (1H^{a+b}, m).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 36,2 ; 36,4 ; 68,0 ; 68,6 ; 72,3 ; 73,5 ; 74,6 ; 74,7 ; 75,3 ; 75,8 (CH₂) ; 38,0 ; 38,1 ; 77,5 ; 77,9 ; 81,0 ; 81,1 ; 85,4 ; 86,4 (CH) ; 112,1 ; 118,9 ; 119,0 ; 120,8 ; 123,0 ; 123,9 ; 124,0 ; 127,6-128,7 (CH arom) ; 111,6 ; 111,7 ; 127,1 ; 127,2 ; 136,3 ; 136,4 ; 136,9 ; 137,6 ; 138,0 ; 138,1 ; 138,4 (C quat arom) ; 175,9 ; 176,0 ; 177,2 ; 177,3 (C=O).

3-(1-Benzyloxyméthyl-2,5-dihydro-2,5-dioxo-pyrrol-3-yl)-1-(1-déoxy-2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- β -D-glucopyranos-1-yl)-indole (83**)**



83

Le DDQ (78,2 mg ; 0,344 mmol ; 1,05 équiv.) dissous dans le dioxane (3,4 mL) est additionné lentement à la solution du composé **82** (281 mg ; 0,328 mmol) dissous dans le dioxane (3,4 mL). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 3 heures puis filtré sur verre fritté. Le filtrat est évaporé sous pression réduite. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 8:2). On obtient alors le composé **83** sous la forme d'un solide jaune (254 mg ; 0,297 mmol ; R = 91%).

F = 47°C

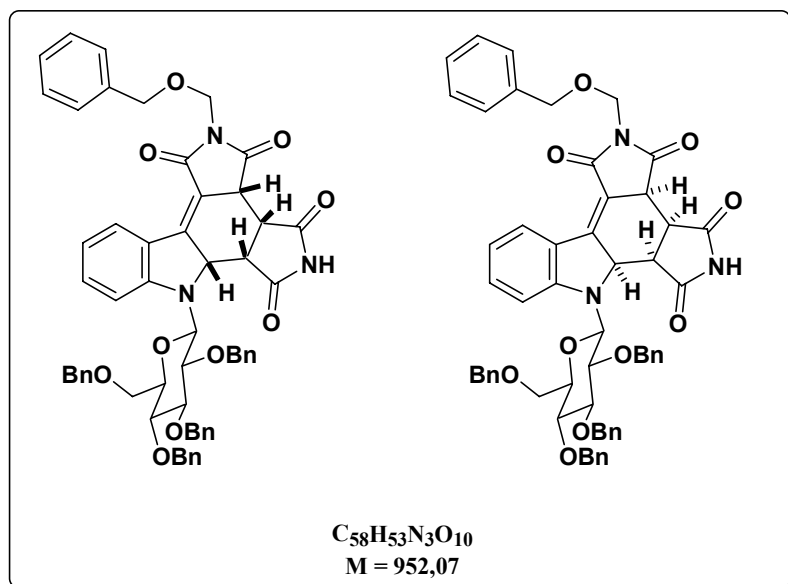
IR (KBr) : $\nu_{C=C} = 1615\text{ cm}^{-1}$; $\nu_{C=O} = 1710, 1770\text{ cm}^{-1}$.

Mass (ESI+) m/z : 877 [M+Na]⁺, 893 [M+K]⁺

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : 3,65 (1H, d, $J = 10,5$ Hz) ; 3,72-3,80 (2H, m) ; 3,83 (1H, dd, $J_1 = 11,0$ Hz, $J_2 = 4,0$ Hz) ; 3,86 (1H, t, $J = 9,0$ Hz) ; 3,93 (1H, t, $J = 9,0$ Hz) ; 3,99 (1H, t, $J = 9,0$ Hz) ; 4,26 (1H, d, $J = 10,5$ Hz) ; 4,53 (1H, d, $J = 12,0$ Hz) ; 4,60 (1H, d, $J = 12,0$ Hz) ; 4,66-4,70 (3H, m) ; 4,89-4,96 (3H, m) ; 5,13 (2H, s) 5,43 (1H, d, $J = 9,0$ Hz) ; 6,65-6,69 (2H, m) ; 6,71 (1H, s) ; 6,98-7,04 (2H, m) ; 7,07 (1H, m) ; 7,21-7,41 (22H, m) ; 7,66 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,79 (1H, d, $J = 7,5$ Hz) ; 8,52 (1H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : 66,6 ; 68,5 ; 71,5 ; 73,5 ; 75,0 ; 75,4 ; 75,8 (CH_2) ; 77,5 ; 78,1 ; 80,8 ; 85,4 ; 86,7 (CH) ; 106,7 ; 127,1 ; 136,3 ; 136,6 ; 137,6 ; 137,9 ; 138,0 ; 138,3 ; 139,2 (C quat) ; 112,8 ; 116,0 ; 120,5 ; 122,8 ; 124,0 ; 127,7-128,6 ; 132,1 (CH) ; 171,3 ; 171,6 (C=O).

2-Benzyloxyméthyl-7-(1-déoxy-2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- β -D-glucopyranos-1-yl)-1,3,3a,3b,4,6,6a,6b-octahydro-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (84a**) et (**84b**)**



84a et 84b

Un mélange de composé **83** (171 mg ; 0,20 mmol) et de maléimide (97 mg ; 1,0 mmol) dans le toluène (5 mL) est porté à reflux pendant 19 h. Après retour à température ambiante le milieu réactionnel est évaporé sous pression réduite. Une chromatographie sur gel de silice (gradient d'élution : cyclohexane/acétate d'éthyle de 7:3 à 4:6) du brut réactionnel permet d'isoler les 2 diastéréoisomères **84a** (117 mg ; 0,123 mmol) et **84b** (61,4 mg ; 0,064 mmol) avec un rendement global de 94%.

Isomère 84a

F = 95°C

IR (KBr) : $\nu_{\text{C}=\text{C}} = 1605 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C}=\text{O}} = 1650, 1710, 1725, 1765 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{N-H}} = 3150\text{-}3550 \text{ cm}^{-1}$.

Masse (ESI+) m/z : 974 $[M+Na]^+$

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) : 2,81 (1H, d, $J = 6,5$ Hz) ; 3,31 (1H, dd, $J_1 = 8,5$ Hz, $J_2 = 6,5$ Hz) ; 3,59-3,66 (2H, m) ; 3,72-3,89 (6H, m) ; 4,17 (1H, d, $J = 10,5$ Hz) ; 4,38 (1H, d, $J = 12,0$ Hz) ; 4,45 (1H, d, $J = 10,5$ Hz) ; 4,46 (1H, d, $J = 12,0$ Hz) ; 4,65 (1H, d, $J = 12,0$ Hz) ; 4,66 (1H, d, $J = 10,5$ Hz) ; 4,70 (1H, d, $J = 12,0$ Hz) ; 4,86 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 4,87 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 4,94 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 5,09 (1H, d, $J = 10,5$ Hz) ; 5,15 (1H, d, $J = 10,5$ Hz) ; 5,33 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 6,55-6,60 (2H, m) ; 6,82 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 6,93 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,01-7,09 (3H, m) ; 7,18-7,35 (19H, m) ; 7,39 (2H, d, $J = 7,5$ Hz) ; 7,90 (1H, se, NH) ; 8,60 (1H, d, $J = 7,5$ Hz).

RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) : 38,9 ; 42,1 ; 43,7 ; 61,7 ; 76,7 ; 77,4 ; 77,8 ; 85,7 ; 86,2 (CH) ; 67,5 ; 68,3 ; 71,8 ; 73,4 ; 74,5 ; 75,2 ; 75,7 (CH₂) ; 110,6 ; 119,3 ; 127,6-128,8 ; 134,9 (CH arom) ; 110,3 ; 120,9 ; 136,7 ; 137,7 ; 137,9 (2C) ; 138,3 ; 147,7 ; 155,7 (C quat) ; 165,9 ; 172,1 ; 173,0 ; 174,4 (C=O).

Isomère **84b**

F = 94 °C

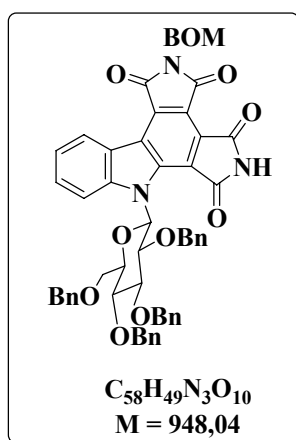
IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1650, 1705, 1725, 1760\text{ cm}^{-1}$; $\nu_{N-H} = 3200-3550\text{ cm}^{-1}$.

Masse (ESI+) m/z : 974 $[M+Na]^+$

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) : 2,62 (1H, m) ; 3,58-3,70 (3H, m) ; 3,80 (1H, t, $J = 9,0$ Hz) ; 3,86-3,89 (2H, m) ; 3,91 (1H, t, $J = 9,5$ Hz) ; 4,03 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 4,15 (1H, t, $J = 9,0$ Hz) ; 4,52-4,57 (2H, m) ; 4,65 (1H, d, $J = 10,5$ Hz) ; 4,68-4,77 (5H, m) ; 4,88 (1H, d, $J = 10,5$ Hz) ; 4,90 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 4,98 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 5,15 (1H, d, $J = 10,5$ Hz) ; 5,20 (1H, d, $J = 10,5$ Hz) ; 6,87-6,96 (3H, m) ; 7,08-7,14 (3H, m) ; 7,22-7,39 (20H, m) ; 7,44 (2H, d, $J = 7,5$ Hz) ; 7,98 (1H, se, NH) ; 8,72 (1H, d, $J = 8,0$ Hz).

RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) : 67,5 ; 68,5 ; 71,8 ; 73,3 ; 75,2 ; 75,6 ; 75,7 (CH₂) ; 39,9 ; 41,3 ; 42,1 ; 65,2 ; 77,8 ; 77,9 ; 79,2 ; 86,2 ; 86,8 (CH) ; 113,3 ; 120,4 ; 127,5-128,7 ; 129,0 ; 134,7 (CH arom) ; 110,8 ; 122,6 ; 137,3 ; 137,7 ; 138,0 ; 138,2 ; 138,4 ; 147,5 ; 154,5 (C quat) ; 165,9 ; 172,0 ; 173,4 ; 174,5 (C=O).

2-Benzyloxyméthyl-7-(1-déoxy-2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- β -D-glucopyranos-1-yl)-1,3,4,6-tétrahydro-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (85**)**



Le mode opératoire ci-dessous conduisant au composé **85** est appliqué aux isomères **84a** et **84b** avec des rendements comparables :

Un mélange de composé **84b** (84 mg ; 0,088 mmol) et de MnO₂ (153 mg ; 1.76 mmol) dans le chloroforme (4 mL) est chauffé à reflux pendant 60 heures. Après évaporation du milieu réactionnel, la purification du brut réactionnel par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 7:3) permet d'isoler le composé **85** sous la forme d'un solide orange (62,7 mg ; 0,066 mmol ; R = 75%).

F = 78-80°C

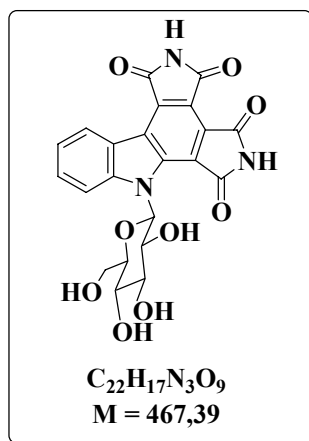
IR (KBr) : $\nu_{C=O}$ = 1722, 1781 cm⁻¹, ν_{NH} = 3130-3530 cm⁻¹.

Masse (ESI+) m/z : 970 [M+Na]⁺

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 3,20 (1H, d, J = 11,5 Hz) ; 3,90-4,03 (5H, m) ; 4,09-4,14 (1H, m) ; 4,21 (1H, d, J = 11,5 Hz) ; 4,68 (1H, d, J = 12,0 Hz) ; 4,71-4,78 (2H, m) ; 4,79 (2H, s) ; 4,85 (1H, d, J = 11,0 Hz) ; 4,92 (1H, d, J = 11,0 Hz) ; 4,98 (1H, d, J = 11,0 Hz) ; 5,26 (1H, d, J = 11,0 Hz) ; 5,31 (1H, d, J = 11,0 Hz) ; 6,15 (2H, d, J = 7,5 Hz) ; 6,68 (2H, t, J = 7,5 Hz) ; 6,85 (1H, t, J = 7,5 Hz) ; 7,23-7,48 (21H, m) ; 7,53 (1H, t, J = 7,5 Hz) ; 7,61 (1H, d, J = 8,5 Hz) ; 8,02 (1H, d, J = 8,5 Hz) ; 8,67 (1H, se, NH) ; 9,13 (1H, d, J = 8,0 Hz).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : 67,3 ; 69,0 ; 72,0 ; 73,3 ; 74,5 ; 75,3 ; 75,9 (CH_2) ; 77,5 ; 77,9 ; 79,8 ; 85,7 ; 87,0 (CH) ; 115,2 ; 123,5 ; 126,7-128,6 ; 130,7 (CH arom) ; 118,3 ; 119,3 ; 121,7 ; 126,4 ; 127,2 ; 130,0 ; 136,7 ; 137,5 ; 137,9 (2C) ; 138,1 ; 140,1 ; 142,1 (C quat arom) ; 163,9 (2C) ; 166,6 ; 166,9 (C=O).

7-(1-Déoxy- β -D-glucopyranos-1-yl)-1,3,4,6-tétrahydro-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (86**)**



86

Une solution du composé **85** (567 mg ; 0,60 mmol) dans un mélange méthanol/THF 1:4 (44 mL) est hydrogénée à 1 atm pendant 24 heures en présence de $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ à 20% (283 mg). Le milieu réactionnel est ensuite dilué avec du méthanol et du THF puis placé sous agitation pendant 2h. Le mélange est filtré sur Célite. Le filtrat est évaporé et le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution THF/cyclohexane 8:2 à THF pur). Le solide obtenu est lavé au CH_2Cl_2 ce qui permet d'obtenir le composé **86** sous la forme d'un solide orange (199 mg ; 0,43 mmol ; $R = 71\%$).

$F > 300^\circ\text{C}$

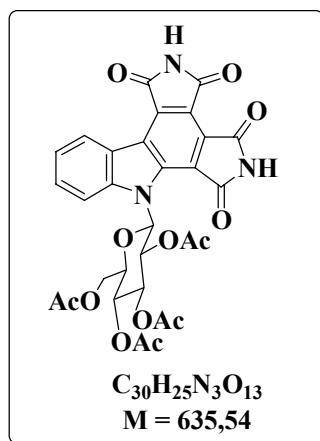
IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}} = 1720, 1755, 1770 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH, OH}} = 3100\text{-}3600 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (ESI+) m/z calculée pour $\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_9\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 490,0862, trouvée 490,0877.

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 3,40-3,52 (2H, m) ; 3,59-3,73 (2H, m) ; 3,84-3,94 (2H, m) ; 4,74 (1H, t, $J = 5,5 \text{ Hz}$, OH) ; 5,02 (1H, d, $J = 5,5 \text{ Hz}$) ; 5,19 (1H, d, $J = 5,0 \text{ Hz}$, OH) ; 5,23 (1H, d, $J = 5,0 \text{ Hz}$, OH) ; 7,53 (1H, d, $J = 9,0 \text{ Hz}$) ; 7,54 (1H, t, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 7,74 (1H, t, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 8,09 (1H, d, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 9,28 (1H, d, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 11,62-11,91 (2H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 61,0 (CH_2) ; 69,9 ; 70,4 ; 77,4 ; 80,3 ; 87,7 (CH) ; 115,4 ; 122,5 ; 126,0 ; 129,8 (CH arom) ; 118,5 ; 120,5 ; 121,5 ; 125,2 ; 127,8 ; 131,8 ; 140,2 ; 141,8 (C quat arom) ; 165,6 ; 165,8 ; 168,3 ; 169,0 ($\text{C}=\text{O}$).

7-(1-Déoxy-2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranos-1-yl)-1,3,4,6-tétrahydro-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (87**)**



87

A un mélange du composé **86** (50 mg ; 0,107 mmol) dans la pyridine anhydre (221 μL ; 2,73 mmol) à 0°C est ajouté l'anhydride acétique (101 μL ; 1,07 mmol ; 10 équiv.). Le milieu réactionnel est ensuite laissé sous agitation pendant 20 heures à température ambiante. Après hydrolyse, le mélange est extrait avec de l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO_4 , filtrée et évaporée. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution cyclohexane/acétate d'éthyle 5:5 à 4:6) ce qui conduit à l'obtention du composé **87** sous la forme d'un solide jaune (32,6 mg ; 0,051 mmol ; R = 48%).

F = 176°C

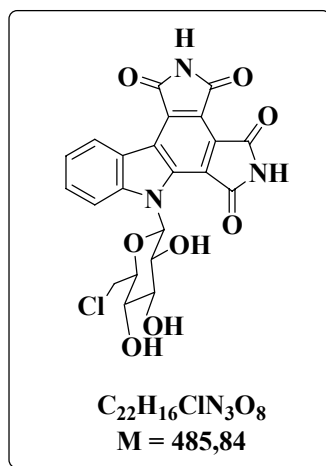
IR (KBr) : $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ = 1685-1800 cm^{-1} ; ν_{NH} = 3100-3550 cm^{-1} .

Masse exacte (ESI+) m/z calculée pour $\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_{13}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 636,1466 ; trouvée 636,1495.

RMN ^1H (CDCl_3) : 1,53 (3H, s) ; 2,03 (3H, s) ; 2,17 (3H, s) ; 2,20 (3H, s) ; 4,32-4,44 (2H, m) ; 4,54 (1H, d, $J = 11,5$ Hz) ; 5,50 (1H, t, $J = 9,5$ Hz) ; 5,67 (1H, t, $J = 9,5$ Hz) ; 5,89 (1H, t, $J = 9,5$ Hz) ; 7,38 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,71 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,99 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 8,07 (1H, d, $J = 9,0$ Hz) ; 8,82 (1H, se, NH) ; 8,96 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 9,06 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : 20,1 ; 20,6 ; 20,7 ; 20,9 (CH_3) ; 61,8 (CH_2) ; 68,2 ; 69,2 ; 73,5 ; 74,8 ; 85,5 (CH) ; 114,3 ; 123,7 ; 127,0 ; 131,0 (CH arom) ; 117,7 ; 121,2 ; 121,6 ; 126,9 ; 127,4 ; 131,5 ; 139,8 ; 141,5 (C quat arom) ; 164,5 ; 165,1 ; 166,9 ; 167,4 ; 169,5 ; 169,8 ; 170,3 ; 171,0 ($\text{C}=\text{O}$).

7-(6-Chloro-1,6-didéoxy- β -D-glucopyranos-1-yl)-1,3,4,6-tétrahydro-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (88**)**



88

Le composé **86** (150 mg ; 0,321 mmol) est dissous dans la pyridine anhydre (1,6 mL). PPh_3 (337 mg ; 1,28 mmol) puis CCl_4 (62 μL ; 0,64 mmol) sont ajoutés successivement. Le mélange est agité à température ambiante pendant 8 heures puis évaporé et séché une nuit à la pompe. Le résidu est repris au CH_2Cl_2 puis filtré sur verre fritté avant d'être purifié par chromatographie sur colonne de silice flash (gradient d'élution cyclohexane/THF de 8:2 à THF pur puis THF/méthanol 95:5) ce qui permet d'obtenir le composé **88** (118 mg ; 0,243 mmol ; R = 76%) sous la forme d'un solide orange.

F > 300°C

IR (KBr) : $\nu_{\text{C}=\text{O}} = 1725, 1780 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH, OH}} = 3150\text{-}3650 \text{ cm}^{-1}$.

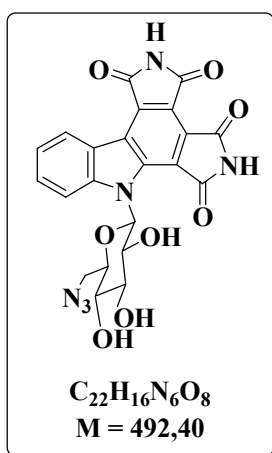
Masse exacte (ESI+) m/z calculée pour $\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_8\text{NaCl}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 508,0524 ; trouvée 508,0544.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) : 3,46 (1H, dt, $J_1 = 9,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 5,5 \text{ Hz}$) ; 3,59 (1H, dt, $J_1 = 9,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 6,0 \text{ Hz}$) ; 3,84-3,90 (1H, m) ; 3,92 (1H, dt, $J_1 = 9,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 6,0 \text{ Hz}$) ; 4,02 (1H, dd, $J_1 = 12,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 5,0 \text{ Hz}$) ; 4,08 (1H, dd, $J_1 = 12,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 2,5 \text{ Hz}$) ; 5,13 (1H, d, $J = 6,0 \text{ Hz}$) ; 5,33 (1H, d, $J = 5,5 \text{ Hz}$) ; 5,58 (1H, d, $J = 6,0 \text{ Hz}$) ; 7,55 (1H, ddd, $J_1 = 8,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 7,0 \text{ Hz}$, $J_3 = 1,0 \text{ Hz}$) ; 7,58 (1H, d, $J = 9,0$

Hz) ; 7,75 (1H, ddd, $J_1 = 8,5$ Hz, $J_2 = 7,0$ Hz, $J_3 = 1,5$ Hz) ; 8,08 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 9,28 (1H, ddd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz, $J_3 = 0,5$ Hz) ; 11,62-11,97 (2H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 45,1 (CH_2) ; 70,2 (2C) ; 76,8 ; 77,8 ; 87,6 (CH) ; 115,0 ; 122,6 ; 126,1 ; 129,8 (CH arom) ; 118,5 ; 120,7 ; 121,6 ; 125,2 ; 127,7 ; 131,8 ; 140,2 ; 141,6 (C quat arom) ; 165,5 ; 165,7 ; 168,3 ; 168,8 (C=O).

7-(6-Azido-1,6-didéoxy- β -D-glucopyranos-1-yl)-1,3,4,6-tétrahydro-dipyrrolo[3,4- α :3,4- c]carbazole-1,3,4,6-tétraone (89**)**



89

A une solution du composé **88** (71 mg ; 0,146 mmol) dans le DMF anhydre (3,8 mL) est ajouté NaN_3 (95 mg ; 1,46 mmol). Le mélange est chauffé à 90 °C pendant 3 jours. Le mélange réactionnel est évaporé puis le résidu obtenu est repris à l'eau, filtré sur verre fritté, lavé à l'eau puis séché. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/THF 8:2). Le solide obtenu est ensuite repris au CH_2Cl_2 , filtré et lavé au CH_2Cl_2 ce qui permet d'obtenir le composé **89** (43,0 mg ; 0,087 mmol ; R = 60%) sous la forme d'un solide orange.

F > 300°C (décomposition)

IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}} = 1720, 1775 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{N}_3} = 2105 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{NH, OH}} = 3110\text{-}3620 \text{ cm}^{-1}$.

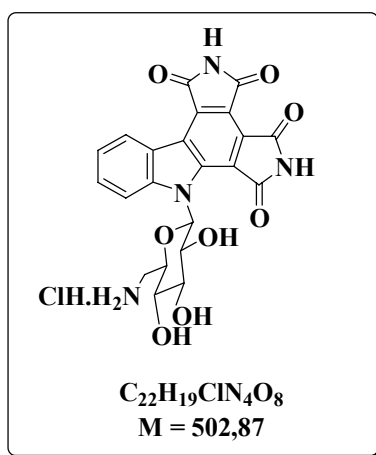
Masse exacte (ESI+) m/z calculée pour $\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{O}_8\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 515,0927, trouvée 515,0934.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 3,40-3,48 (1H, m) ; 3,50-3,58 (1H, m) ; 3,65 (1H, dd, $J_1 = 13,0$ Hz, $J_2 = 6,0$ Hz) ; 3,76-3,84 (2H, m) ; 3,93-4,01 (1H, m) ; 5,13 (1H, d, $J = 6,0$ Hz) ; 5,33 (1H, d, $J = 5,5$ Hz) ; 5,52 (1H, d, $J = 5,5$ Hz) ; 7,52-7,58 (2H, m, $\text{H}_{1'}$ + H_{arom}) ; 7,76 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 8,06 (1H, d, J

= 8,5 Hz) ; 9,27 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,73 (1H, se, NH) ; 11,83 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz DMSO- d_6) : 51,2 (CH_2) ; 70,1 ; 70,3 ; 77,1 ; 77,9 ; 87,7 (CH sucre) ; 114,9 ; 122,5 ; 126,0 ; 128,9 (CH arom) ; 118,5 ; 120,7 ; 121,5 ; 125,2 ; 127,7 ; 131,8 ; 140,2 ; 141,5 (C quat arom) ; 165,4 ; 165,7 ; 168,2 ; 168,8 (C=O).

7-(6-Amino-1,6-didéoxy- β -D-glucopyranos-1-yl)-1,3,4,6-tétrahydro-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone hydrochloride (90)



90

Une solution du composé 89 (20 mg ; 0,041 mmol) dans un mélange méthanol/THF 2:1 (1,5 mL) est hydrogénée pendant 5 heures en présence de charbon palladié à 10% (2 mg) et d'acide chlorhydrique concentré (4 μL). Du charbon palladié à 10% (3 mg) est à nouveau ajouté et le milieu réactionnel est hydrogéné pour 18 heures supplémentaires avant d'être filtré sur Célite. Le filtrat est évaporé sous pression réduite, ce qui permet d'obtenir le composé 90 sous la forme d'un solide jaune (20 mg ; 0,040 mmol ; R = 98%).

F > 235°C (décomposition)

IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}} = 1725, 1770 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH, OH}} = 3100\text{-}3650 \text{ cm}^{-1}$.

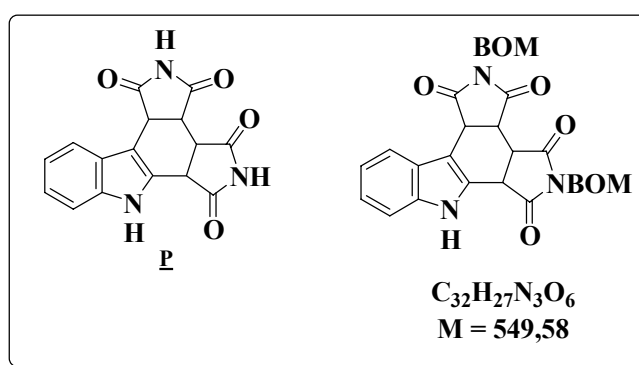
Masse exacte (ESI+) m/z calculée pour $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{O}_8$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 467,1203, trouvée 467,1216.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 3,12-3,21 (1H, m) ; 3,34-3,41 (1H, m) ; 3,44-3,58 (2H, m) ; 3,82-3,89 (1H, m) ; 3,98-4,05 (1H, m) ; 5,21 (1H, d, $J = 5,5$ Hz, OH) ; 5,48 (1H, se, OH) ; 5,75 (1H, d, $J = 4,5$ Hz, OH) ; 7,56 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,61 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H_1) ; 7,75 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 8,07

(3H, se, NH₂·HCl) ; 8,15 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 9,27 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,74 (1H, s, NH) ; 11,88 (1H, s, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 40,5 (CH₂) ; 70,0 ; 71,0 ; 75,6 ; 76,8 ; 87,5 (CH) ; 115,4 ; 122,6 ; 126,0 ; 129,9 (CH arom) ; 118,3 ; 120,8 ; 121,5 ; 125,1 ; 127,7 ; 131,9 ; 140,2 ; 141,5 (C quat arom) ; 165,5 ; 165,7 ; 168,2 ; 168,8 (C=O).

2,5-Dibenzyloxyméthyl-1,3,3a,3b,4,6,6a,11c-octahydro-7H-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (91**)**



A une solution de composé **P** (137 mg ; 0,44 mmol) dans l'acétone anhydre (2,2 mL) est ajoutée la diisopropyléthylamine (308 μ L ; 1,77 mmol ; 4 équiv.). Après 30 minutes d'agitation à température ambiante, le chlorométhylbenzyléther (~60 % RMN Fluka ; 154 μ L ; 0,66 mmol) est ajouté lentement (2 minutes). Le milieu réactionnel est agité pendant 1h30 puis hydrolysé à l'eau et extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO₄. Après filtration et évaporation du solvant, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution : cyclohexane/acétate d'éthyle de 8:2 à 5:5) ce qui permet d'obtenir le composé **91** (144 mg ; 0,26 mmol ; R = 78%) sous la forme d'un solide orange.

F = 84 °C

IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1710, 1788 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3150\text{-}3600 \text{ cm}^{-1}$.

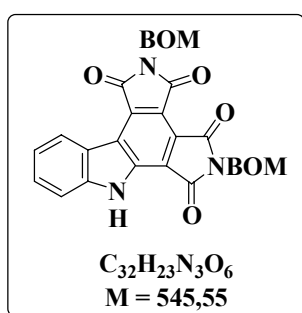
Masse (ESI+) m/z : 572 [M+Na]⁺

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 3,99 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 4,10 (1H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 4,29 (2H, s) ; 4,46 (1H, dd, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz) ; 4,49 (2H, s) ; 4,55 (1H, dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz) ; 4,81 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 4,88 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 4,94 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 4,97 (1H, d, $J = 11,0$ Hz) ; 7,02-

7,12 (3H, m) ; 7,15-7,32 (9H, m) ; 7,45 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,87 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,48 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 38,8 ; 38,9 ; 39,9 ; 40,0 (CH) ; 67,1 ; 67,5 ; 70,4 ; 70,6 (CH_2) ; 111,6 ; 119,2 ; 120,1 ; 122,0 ; 127,5-128,1 (CH arom) ; 103,4 ; 125,5 ; 127,0 ; 137,1 ; 137,2 ; 137,3 (C arom) ; 174,6 ; 175,4 ; 176,0 (2C) ($\text{C}=\text{O}$).

2,5-Dibenzyloxyméthyl-1,3,4,6-tétrahydro-7H-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone
(92)



92

Un mélange du composé **91** (505 mg ; 0,92 mmol) et de DDQ (428 mg ; 1,89 mmol) dans le dioxane (14,8 mL) est chauffé à reflux pendant 3 jours. Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est évaporé, le résidu repris à l'acétate d'éthyle puis filtré. Le composé **92** (462 mg ; 0,85 mmol ; R = 92%) est obtenu sous la forme d'un solide jaune.

F = 228-233°C

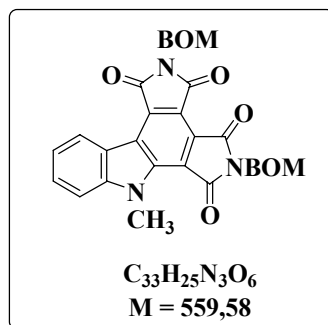
IR (KBr) : $\nu_{\text{C}=\text{O}} = 1720, 1778 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3150\text{-}3600 \text{ cm}^{-1}$.

Masse (ESI+) m/z : 568 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 4,70 (2H, s) ; 4,71 (2H, s) ; 5,21 (2H, s) ; 5,23 (2H, s) ; 7,25-7,32 (2H, m) ; 7,33-7,44 (8H, m) ; 7,47 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,73 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,79 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,98 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 12,92 (1H, s, NH).

En raison de son insolubilité dans le DMSO, le spectre de RMN ^{13}C du composé **92** n'a pu être enregistré.

2,5-Dibenzyloxyméthyl-7-méthyl-1,3,4,6-tétrahydro-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (93**)**



93

A une solution du composé **92** (150 mg ; 0,275 mmol) dans le THF (2,5 mL) et le DMF (0,4 mL) refroidie à 0 °C est ajouté le NaH (suspension à 60% dans l'huile minérale ; 18,0 mg ; 0,45 mmol). Le mélange est agité à 0°C pendant 15 min puis l'iodure de méthyle (24 µL ; 0,39 mmol) est ajouté. Le mélange réactionnel est agité pendant 4 heures à température ambiante, hydrolysé avec une solution aqueuse 0,2 M d'HCl et extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO₄. Après filtration et évaporation du solvant, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/THF 8:2) ce qui permet d'obtenir le composé **93** (93,4 mg ; 0,167 mmol ; R = 61%) sous la forme d'un solide orangé.

F = 175-180 °C

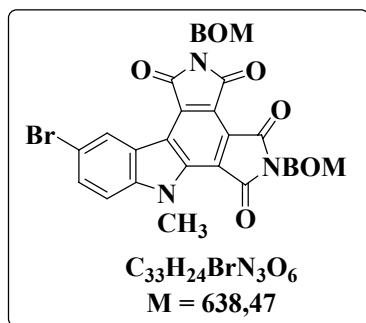
IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}} = 1722, 1782 \text{ cm}^{-1}$.

Masse (ESI⁺) m/z : 582 [M+Na]⁺

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 4,46 (3H, s, CH₃) ; 4,70 (2H, s) ; 4,71 (2H, s) ; 5,22 (4H, s) ; 7,26-7,31 (2H, m) ; 7,33-7,43 (8H, m) ; 7,51-7,56 (1H, m) ; 7,80-7,87 (2H, m) ; 9,10 (1H, d, $J = 8,0 \text{ Hz}$).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 34,0 (CH₃) ; 67,0 ; 67,1 ; 70,7 (2C) (CH₂) ; 110,7 ; 122,3 ; 125,2 ; 127,6 ; 128,2 ; 128,3 ; 130,7 (CH arom) ; 116,5 ; 117,5 ; 118,8 ; 124,3 ; 125,5 ; 129,4 ; 137,6 (2C) ; 138,8 ; 143,9 (C arom) ; 163,7 (2C) ; 165,9 ; 166,8 (C=O).

10-Bromo-2,5-dibenzyloxyméthyl-7-méthyl-1,3,4,6-tétrahydro-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (94)



94

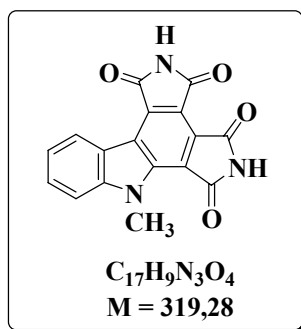
A une solution du composé 71 (200 mg ; 0,320 mmol) dans le THF (2,9 mL) et le DMF (480 µL) refroidie à 0°C est ajouté le NaH (suspension à 60% dans l'huile minérale ; 20,5 mg ; 0,51 mmol). Le mélange est agité à 0 °C pendant 15 min puis l'iodure de méthyle (28 µL ; 0,45 mmol) est ajouté. Le mélange réactionnel est agité 4 heures à température ambiante, hydrolysé avec une solution aqueuse 0,2 M d'HCl et extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO₄. Après filtration et évaporation du solvant, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/THF 8:2) ce qui permet d'obtenir le composé 94 (143 mg ; 0,224 mmol ; R = 70%) sous la forme d'un solide orangé.

F = 211-221°C

IR (KBr) : $\nu_{C=O}$ = 1720, 1770, 1785 cm⁻¹.

Masse (ESI⁺) m/z : 660, 662 [M+Na]⁺

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 4,43 (3H, s, CH₃) ; 4,71 (4H, s) ; 5,24 (4H, s) ; 7,25-7,32 (2H, m) ; 7,33-7,44 (8H, m) ; 7,82 (1H, d, J = 9,0 Hz) ; 7,92 (1H, dd, J_1 = 9,0 Hz, J_2 = 2,0 Hz) ; 9,15 (1H, d, J = 2,0 Hz).

7-Méthyl-1,3,4,6-tétrahydro-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (95)**95**

Une solution du composé 93 (93,4 mg ; 0,167 mmol) dans l'acide trifluoroacétique (10 mL) est chauffée à reflux pendant 60 heures. Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est évaporé, le résidu repris à l'eau, filtré sur verre fritté, lavé à l'eau puis séché. Le solide orange (90 mg) obtenu est mis en suspension dans le *p*-xylène (3 mL) puis porté à reflux pendant 60 heures. Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est évaporé, le résidu repris à l'eau, filtré sur verre fritté, lavé à l'eau, à l'acétate d'éthyle et au THF puis séché. Le composé 95 (42 mg ; 0,132 mmol ; R = 79%) est obtenu sous la forme d'un solide orange.

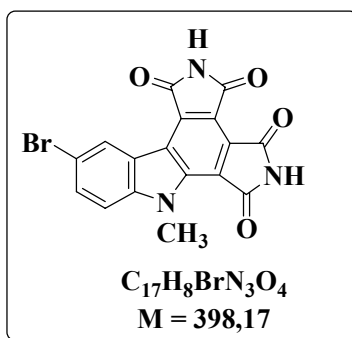
F > 290°C

IR (KBr) : $\nu_{C=C} = 1612 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{C=O} = 1713, 1776 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3150\text{-}3700 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (ESI+) calculée pour $C_{17}H_9N_3NaO_4$ $[M+Na]^+$ 342,0491, trouvée 342,0504.

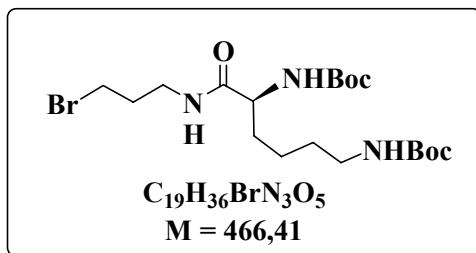
RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 4,48 (3H, s, CH₃) ; 7,50 (1H, t, $J = 7,5 \text{ Hz}$) ; 7,76-7,85 (2H, m) ; 9,14 (1H, d, $J = 8,0 \text{ Hz}$) ; 11,62 (1H, s, NH) ; 11,67 (1H, s, NH).

En raison de son insolubilité dans le DMSO, le spectre de RMN ^{13}C du composé 95 n'a pu être enregistré.

10-Bromo-1,3,4,6-tétrahydro-7-méthyl-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (96)**96**

Une solution du composé **94** (50 mg ; 0,078 mmol) dans l'acide trifluoroacétique (4,6 mL) est chauffée à reflux pendant 60 heures. Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est évaporé, le résidu repris à l'eau, filtré sur verre fritté, lavé à l'eau puis séché. Le solide orange (36,4 mg) obtenu est mis en suspension dans le *p*-xylène (1,5 mL) puis porté à reflux pendant 60 heures. Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est évaporé, le résidu repris à l'eau, filtré sur verre fritté, lavé à l'eau et à l'acétate d'éthyle puis séché. Le composé **96** (18 mg ; 0,045 mmol ; R = 58%) est obtenu sous la forme d'un solide orange.

F > 290°C

IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1720, 1785 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3150-3550 \text{ cm}^{-1}$.Masse exacte (ESI+) calculée pour $C_{17}H_8BrN_3NaO_4$ $[M+Na]^+$ 419,9596, trouvée 419,9596.RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 4,35 (3H, s, CH₃) ; 7,68 (1H, d, $J = 9,0 \text{ Hz}$) ; 7,80 (1H, d, $J = 8,5 \text{ Hz}$) ; 9,02 (1H, s) ; 11,64 (1H, s, NH) ; 11,69 (1H, s, NH).RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 34,3 (CH₃) ; 112,8 ; 127,3 ; 132,3 (CH arom) ; 114,0 ; 118,7 ; 119,4 ; 120,8 ; 122,7 ; 127,8 ; 131,7 ; 139,2 ; 142,6 (C arom) ; 165,4 ; 165,5 ; 167,6 ; 168,6 (C=O).**1-(N_α, N_ϵ -Di-Boc-L-lysinamido)-3-bromopropane (97)****97**

A une solution de sel de N_{α},N_{ϵ} -di-Boc-L-lysine dicyclohexyl ammonium (528 mg ; 1,00 mmol) dans l'acétate d'éthyle (2 mL) à 0°C est ajoutée une solution aqueuse 1 M d' H_2SO_4 (1,2 mL). Le mélange est placé sous agitation à température ambiante pendant 30 minutes puis de l'eau est ajoutée. Le mélange est extrait à l'acétate d'éthyle puis la phase organique est séchée sur $MgSO_4$, filtrée et évaporée. L'acide libre obtenu sous la forme d'un solide blanc est directement utilisé pour le couplage.

De la diisopropyléthylamine (192 μ L ; 1,10 mmol) est ajoutée à 0°C et sous argon à une suspension de bromhydrate de bromopropylamine (219 mg, 1,00 mmol) dans le THF (2,5 mL). Le mélange est agité pendant 15 minutes puis une solution de la N_{α},N_{ϵ} -di-Boc-lysine obtenue précédemment, de HOBt hydrate (162 mg) et d'EDCI (211 mg ; 1,10 mmol) dans le THF (2,5 mL) est ajoutée par l'intermédiaire d'une canule. Après 3 heures d'agitation à température ambiante, le mélange réactionnel est hydrolysé à l'aide d'une solution aqueuse saturée en NH_4Cl puis extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$, filtrée et évaporée. La purification du brut réactionnel par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 1:1) permet d'obtenir le composé **97** (382 mg ; 0,82 mmol ; R = 82%) sous la forme d'un solide blanc.

F = 35°C

IR (KBr) : $\nu_{C=O}$ = 1658, 1703 cm^{-1} ; ν_{NH} = 3140-3560 cm^{-1} .

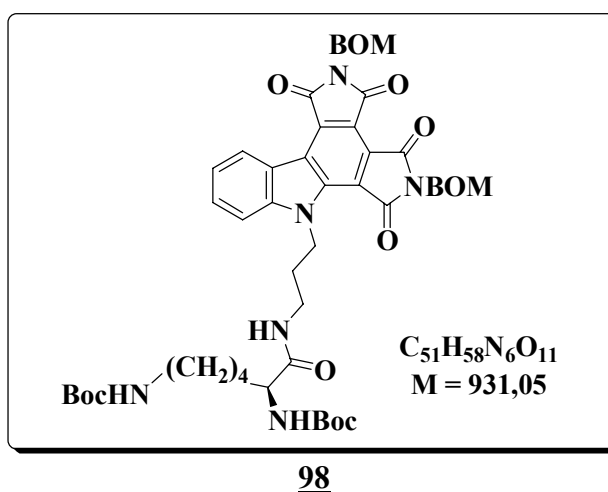
Masse (ESI+) m/z : 488, 490 $[M+Na]^+$

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) : 1,44 (18H, s) ; 1,32-1,54 (4H, m) ; 1,57-1,69 (1H, m) ; 1,78-1,88 (1H, m) ; 2,03-2,12 (2H, m) ; 3,05-3,16 (2H, m) ; 3,37-3,46 (4H, m) ; 3,97-4,06 (1H, m) ; 4,58-4,70 (1H, se) ; 5,12-5,25 (1H, se) ; 6,54 (1H, t, J = 5,5 Hz).

RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) : 28,4 ; 28,5 (CH_3) ; 22,6 ; 29,7 ; 30,7 ; 31,9 ; 32,1 ; 37,9 ; 39,8 (CH_2) ; 54,5 (CH) ; 79,1 ; 80,0 (C_{t-Bu}) ; 155,9 ; 156,3 ; 172,6 ($C=O$).

$[\alpha]_D^{20}$ = -17 ($CHCl_3$, c = 1,015 g/L)

7-(3-(N_{α},N_{ϵ} -Di-Boc-L-lysynamido)-propyl)-2,5-dibenzyloxyméthyl-1,3,4,6,-tétrahydro-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (98**)**



A une solution du composé **92** (50,0 mg ; 0,092 mmol) dans le DMF (3 mL) refroidie à 0 °C est ajouté le carbonate de césium (44,0 mg ; 0,135 mmol). Le mélange est agité à 0°C pendant 15 min avant d'ajouter par l'intermédiaire d'une canule une solution du composé **97** (191 mg ; 0,41 mmol) dans le THF (1,5 mL) puis l'iodure de tétrabutylammonium (332 mg ; 0,90 mmol). Le mélange réactionnel est agité pendant 60 heures à température ambiante, hydrolysé avec une solution aqueuse saturée en NH_4Cl et extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO_4 . Après filtration et évaporation du solvant, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 1:1) ce qui permet d'obtenir le composé **98** (26,6 mg ; 0,0286 mmol ; R = 31%) sous la forme d'un solide orangé.

F = 173 °C

IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}}$ = 1652, 1684, 1722, 1782 cm^{-1} ; ν_{NH} = 3170-3580 cm^{-1} .

Masse (ESI+) m/z : 953 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

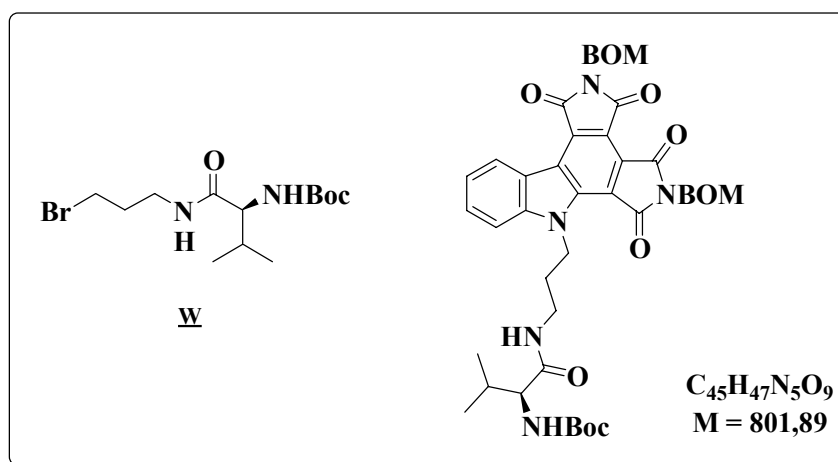
RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : 1,38 (9H, s) ; 1,39 (9H, s) ; 1,20-1,44 (4H, m) ; 1,47-1,65 (2H, m) ; 1,92-2,05 (2H, m) ; 2,84-2,95 (2H, m) ; 3,18-3,29 (2H, m) ; 3,83-3,91 (1H, m) ; 4,68 (2H, s) ; 4,72 (2H, s) ; 5,05 (2H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 5,22 (2H, s) ; 5,24 (2H, s) ; 6,79 (1H, t, $J = 5,5$ Hz, NH) ; 6,85 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, NH) ; 7,23-7,30 (2H, m) ; 7,32-7,43 (8H, m) ; 7,54 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,81 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,92 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 8,00 (1H, t, $J = 5,0$ Hz, NH) ; 9,14 (1H, d, $J = 8,0$ Hz).

RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : : 28,1 ; 28,2 (CH_3) ; 22,9 ; 29,2 ; 29,7 ; 31,5 ; 36,0 ; 39,6 ; 44,5 ;

67,1 ; 67,2 ; 70,6 ; 70,7 (CH₂) 54,5 (CH) ; 77,3 ; 77,9 (C_{t-Bu}) ; 111,0 ; 122,4 ; 125,8 ; 127,5 (3 pics) ; 128,2 ; 130,7 (CH arom) ; 117,0 ; 118,1 ; 119,5 ; 125,0 ; 126,0 ; 130,2 ; 137,6 ; 137,7 ; 138,7 ; 143,5 (C arom) 155,4 ; 155,5 ; 164,0 ; 166,2 ; 167,1 ; 172,3 (C=O).

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -6$ (THF, $c = 0,515$ g/L)

7-(3-(*N*-Boc-L-valinamido)-propyl)-2,5-dibenzyloxyméthyl-1,3,4,6,-tétrahydro-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (99**)**



A une solution du composé **92** (149,2 mg ; 0,273 mmol) dans le DMF (9 mL) refroidie à 0 °C est ajouté le carbonate de césium (133 mg ; 0,408 mmol). Le mélange est agité à 0°C pendant 15 min avant d'ajouter par l'intermédiaire d'une canule une solution du composé **W** (415,2 ; 1,23 mmol) dans le THF (4,5 mL) puis l'iodure de tétrabutylammonium (504,2 mg ; 1,36 mmol). Le mélange réactionnel est agité pendant 60 heures à température ambiante, hydrolysé avec une solution aqueuse saturée en NH₄Cl et extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO₄. Après filtration et évaporation du solvant, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution cyclohexane/acétate d'éthyle de 7:3 à 5:5). Les fractions sont évaporées et le résidu est lavé au méthanol. Le solide obtenu est séché et le composé **99** (10,0 mg ; 12,5 μmol ; R = 5%) est isolé sous la forme d'un solide orangé.

F = 233 °C

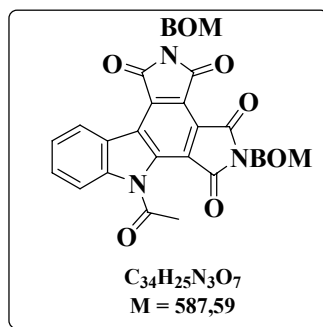
IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}} = 1644, 1678, 1722, 1781 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3190\text{-}3610 \text{ cm}^{-1}$.

Masse (IC⁺) m/z : 824 [M+Na]⁺

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 0,91 (3H, d, J = 6,0 Hz) ; 0,98 (3H, d, J = 6,5 Hz) ; 1,45 (9H, s) ; 2,12-2,31 (3H, m) ; 3,41-3,52 (1H, m) ; 3,58-3,70 (1H, m) ; 4,05 (1H, dd, J_1 = 8,0 Hz, J_2 = 6,0 Hz) ; 4,76 (4H, s) ; 4,96-5,12 (2H, m) ; 5,25 (1H, d, J = 8,0 Hz) ; 5,37 (4H, s) ; 6,65-6,76 (1H, se) ; 7,18-7,34 (6H, m) ; 7,37-7,44 (4H, m) ; 7,52 (1H, t, J = 7,5 Hz) ; 7,60 (1H, d, J = 8,5 Hz) ; 7,77 (1H, t, J = 8,0 Hz) ; 9,31 (1H, d, J = 8,0 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 17,7 ; 19,5 ; 28,4 (CH₃) ; 29,8 ; 36,9 ; 45,5 ; 67,4 ; 67,7 ; 72,1 ; 72,3 (CH₂) ; 30,7, 60,3 (CH) ; 110,2 ; 123,2 ; 127,4 ; 127,8 (3 pics) ; 128,5 ; 131,3 (CH arom) ; 116,5 ; 118,9 ; 120,5 ; 126,1 ; 126,9 ; 130,7 ; 137,3 ; 137,4 ; 139,5 ; 144,1 (C arom) ; 156,1 ; 164,5 ; 164,6 ; 167,1 ; 167,2 ; 172,1 (C=O). Le C quaternaire du groupement Boc n'est pas visible.

7-Acétyl-2,5-dibenzyloxyméthyl-1,3,4,6-tétrahydro-dipyrrolo[3,4-*a*:3,4-*c*]carbazole-1,3,4,6-tétraone (100)



A une solution de composé 92 (50 mg ; 0,092 mmol) dans le DMF (0,4 mL) et le THF (0,8 mL) à 0 °C est ajouté le NaH (suspension à 60% dans l'huile minérale ; 6,0 mg ; 0,15 mmol). Après 15 minutes d'agitation à 0°C, le chlorure d'acétyle (9 µL ; 0,127 mmol) est ajouté. Après retour à température ambiante, le mélange réactionnel est agité pendant 1 heure avant d'être hydrolysé à l'aide d'une solution aqueuse 0,2 M d'HCl. Après extraction à l'acétate d'éthyle, la phase organique est séchée sur MgSO₄. Après filtration et évaporation du solvant, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (toluène/acétate d'éthyle 9:1) ce qui permet d'obtenir le composé 100 (6,5 mg ; 11 µmol ; R = 12%) sous la forme d'un solide jaune-orangé.

F = 140 °C

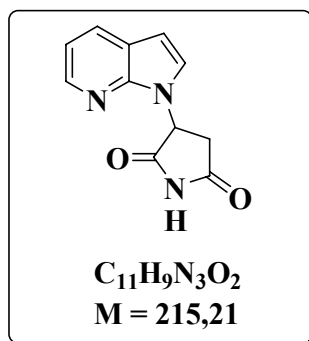
IR (KBr) : $\nu_{C=O}$ = 1722, 1779 cm⁻¹

Masse (ESI+) m/z : 610 $[M+Na]^+$

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,67 (3H, s, CH₃) ; 4,69 (2H, s) ; 4,71 (2H, s) ; 5,22 (2H, s) ; 5,28 (2H, s) ; 7,26-7,31 (2H, m) ; 7,33-7,42 (8H, m) ; 7,67 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,83-7,88 (1H, m) ; 8,06 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 9,17 (1H, d, $J = 8,0$ Hz).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 26,9 (CH₃) ; 67,3 ; 67,4 ; 70,6 (2C) (CH₂) ; 113,3 ; 124,5 ; 125,9 ; 127,5 ; 127,6 ; 128,2 ; 131,7 (CH arom) ; 120,4 ; 121,1 ; 122,5 ; 126,1 ; 127,4 ; 130,5 ; 136,1 ; 137,6 (2C) ; 141,9 (C arom) ; 163,9 ; 164,0 ; 166,1 ; 166,9 ; 172,3 (C=O).

1-(2,5-Dioxopyrrolidin-3-yl)-1H-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine (101)



101

Une solution de 7-azaindole (1g ; 8,47 mmol) et de maléimide (904 mg ; 9,32 mmol ; 1,1 équiv.) dans l'acide acétique (10 mL) est portée à reflux pendant 2,5 jours. Le solvant est évaporé et le résidu est repris à l'acétate d'éthyle. La solution obtenue est lavée avec une solution aqueuse saturée de NaHCO₃ puis séchée sur Na₂SO₄. Après filtration et évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'élution : AcOEt/cyclohexane de 1:2 à 7:3). Le produit obtenu est lavé à l'AcOEt et au diéthyléther pour obtenir le composé **101** (184 mg ; 0,86 mmol ; R = 10%) sous la forme d'un solide blanc.

F >200 °C (sublimation)

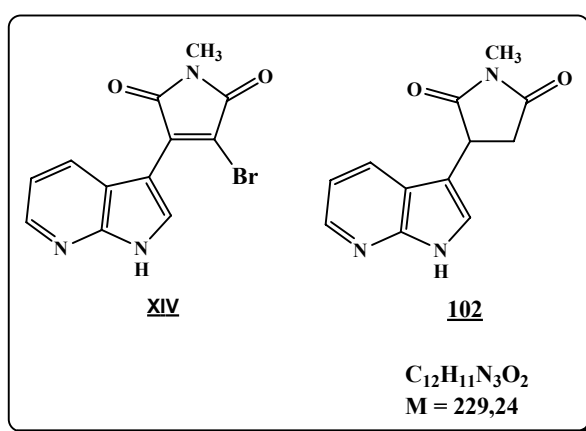
IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1720, 1780 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (FAB+) calculée pour $C_{11}H_{10}N_3O_2$ $[M+H]^+$: 216.0773 ; trouvée : 216.0770.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 3,14 (1H, dd, $J_1 = 17,5$ Hz, $J_2 = 6,0$ Hz) ; 3,26 (1H, dd, $J_1 = 17,5$ Hz, $J_2 = 9,5$ Hz) ; 5,86 (1H, dd, $J_1 = 9,5$ Hz, $J_2 = 6,0$ Hz) ; 6,57 (1H, d, $J = 3,5$ Hz) ; 7,16 (1H, dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 4,5$ Hz) ; 7,71 (1H, d, $J = 3,5$ Hz) ; 8,04 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,26 (1H, d, $J = 4,5$ Hz) ; 11,69 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 36,4 (CH_2) ; 54,6 ; 100,1 ; 116,2 ; 129,0 ; 129,1 ; 142,5 (CH) ; 120,5 ; 146,8 (C quat arom) ; 175,8 ; 176,3 (C=O).

3-(1-Méthyl-2,5-dioxopyrrolidin-3-yl)-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridine (**102**)



Un mélange de composé **XIV** (199,4 mg ; 0,65 mmol) et de charbon palladié à 10% (20 mg) dans le méthanol (40 mL) est hydrogéné à 1 atmosphère pendant 3,5 heures. Le mélange est filtré sur Célite. Le filtrat est évaporé et le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice flash (éluant AcOEt puis AcOEt/MeOH 9:1) pour obtenir le composé **102** (134,9 mg ; 0,59 mmol ; R = 90%) sous la forme d'un solide blanc.

F = 199-202 °C

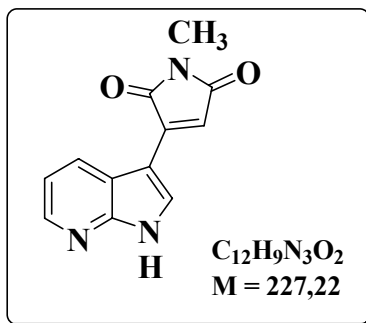
IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}} = 1690, 1770 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3250\text{-}3500 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (FAB+) calculée pour $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 230,0930 ; trouvée : 230,0925.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,92 (1H, dd, $J_1 = 18,0$ Hz ; $J_2 = 5,5$ Hz) ; 2,95 (3H, s, NCH_3) ; 3,25 (1H, dd, $J_1 = 18,0$ Hz ; $J_2 = 9,5$ Hz) ; 4,42 (1H, dd, $J_1 = 9,5$ Hz, $J_2 = 5,5$ Hz) ; 7,10 (1H, dd, $J_1 = 8,0$ Hz ; $J_2 = 4,5$ Hz) ; 7,53 (1H, d, $J = 2,5$ Hz) ; 7,92 (1H, dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 8,26 (1H, dd, $J_1 = 4,5$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz) ; 11,64 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 24,6 (CH₃) ; 37,5 (CH₂) ; 35,6 (CH) ; 115,2 ; 123,8 ; 127,0 ; 142,9 (C tert arom) ; 109,5 ; 118,4 ; 148,6 (C quat arom) ; 176,5 ; 178,1 (C=O).

3-(2,5-Dihydro-1-méthyl-2,5-dioxopyrrol-3-yl)-1H-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine (103)



Une solution de DDQ (138,5 mg ; 0,610 mmol ; 1,05 équiv.) dans le dioxane (10 mL) est additionnée goutte à goutte à une solution de **102** (133,1 mg ; 0,581 mmol) dans le dioxane (5 mL). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 15 h. Après évaporation du solvant, le résidu est repris par du dichlorométhane. Le solide est filtré puis lavé au CH₂Cl₂ et au méthanol ce qui permet d'obtenir le composé **103** (124 mg ; 0,546 mmol ; R = 94%) sous la forme d'un solide jaune.

F > 250 °C

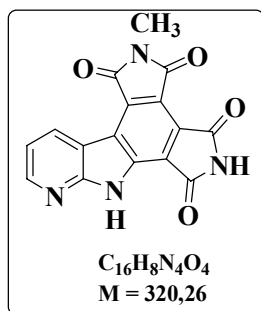
IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}}$ = 1700, 1760 cm⁻¹ ; ν_{NH} = 3300-3600 cm⁻¹.

Masse exacte (FAB+) calculée pour C₁₂H₁₀N₃O₂ [M+H]⁺ : 228.0773 ; trouvée : 228.0774.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,98 (3H, s, NCH₃) ; 7,08 (1H, s) ; 7,29 (1H, dd, J_1 = 8,0 Hz, J_2 = 4,5 Hz) ; 8,40 (1H, dd, J_1 = 4,5 Hz, J_2 = 1,5 Hz) ; 8,47 (1H, d, J = 2,5 Hz) ; 8,52 (1H, dd, J_1 = 8,0 Hz, J_2 = 1,5 Hz) ; 12,59 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 23,4 (CH₃) ; 115,9 ; 117,4 ; 128,9 ; 130,9 ; 144,3 (CH) ; 104,3 ; 117,7 ; 138,3 ; 149,1 (C quat) ; 171,3 ; 171,8 (C=O).

1,3,4,6-Tétrahydro-2-méthyl-5*H*,7*H*-pyridino[2,3-*b*]dipyrrolo[3,4-*c*:3,4-*g*]-indole-1,3,4,6-tétraone
(104)



104

Un mélange de composé **103** (55,0 mg ; 0,242 mmol) et de maléimide (25,9 mg ; 0,267 mmol) dans le *p*-xylène (5 mL) est chauffé à reflux pendant 20 h. Après refroidissement, le mélange est filtré et lavé au *p*-xylène. Le solide obtenu (70,8 mg), est chauffé à reflux pendant 3 jours dans le dioxane (5 mL) en présence de DDQ (115,5 mg ; 0,509 mmol). Après évaporation du solvant, le résidu est repris à l'eau et le solide obtenu est filtré et lavé à l'eau et à l'acétate d'éthyle, ce qui permet d'obtenir le composé **104** (64,7 mg ; 0,202 mmol ; R = 83%) sous la forme d'un solide jaune-orange.

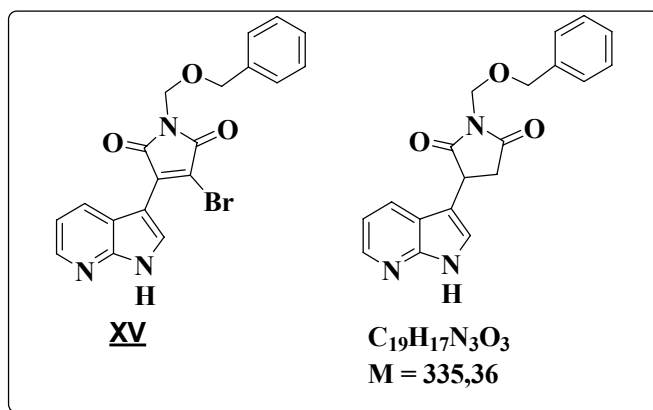
F > 300 °C

IR (KBr) : $\nu_{\text{C}=\text{C}} = 1600 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C}=\text{O}} = 1710, 1730, 1770, 1780 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3200 \text{ cm}^{-1}$.

Masse (FAB+) $[\text{M}+\text{H}]^+$: 321

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 3,19 (3H, s, NCH₃) ; 7,56 (1H, dd, $J_1 = 8,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 4,5 \text{ Hz}$) ; 8,77 (1H, dd, $J_1 = 4,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,5 \text{ Hz}$) ; 9,29 (1H, dd, $J_1 = 8,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,5 \text{ Hz}$) ; 11,67 (1H, s, NH) ; 13,39 (1H, s, NH).

En raison de son insolubilité dans le DMSO, le spectre de RMN ^{13}C du composé **104** n'a pu être enregistré.

3-(2-Benzyloxyméthyl-2,5-dioxopyrrolidin-3-yl)-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridine (105)**105**

Une solution de **XV** (607 mg ; 1,47 mmoles) dans l'acétate d'éthyle (57 mL) est hydrogénée (1 atm) pendant 24 heures en présence de charbon palladié à 10% (607 mg) et de NaHCO₃ (618 mg ; 7,36 mmoles). Après filtration sur Célite et évaporation du filtrat, la purification du brut réactionnel par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 3:7) conduit à l'obtention du composé **105** sous la forme d'un solide blanc (334 mg ; 1,00 mmol ; R = 68%).

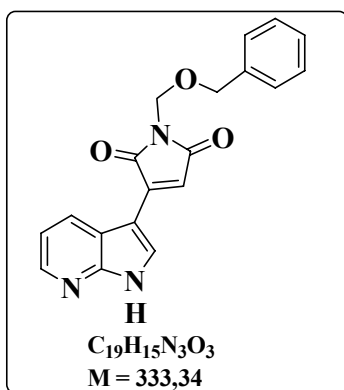
F = 136-138 °C

IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1707, 1776 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3143 \text{ cm}^{-1}$.

Masse (ESI+) m/z : 336 [M+H]⁺

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 3,00 (1H, dd, $J_1 = 18,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 5,5 \text{ Hz}$) ; 3,30 (1H, dd, $J_1 = 18,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 9,5 \text{ Hz}$) ; 4,47 (1H, dd, $J_1 = 9,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 5,5 \text{ Hz}$) ; 4,60 (2H, s, CH₂) ; 4,99 (2H, s, CH₂) ; 7,07 (1H, dd, $J_1 = 8,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 4,5 \text{ Hz}$) ; 7,30-7,42 (5H, m) ; 7,54 (1H, d, $J = 2,5 \text{ Hz}$) ; 7,93 (1H, dd, $J_1 = 8,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,0 \text{ Hz}$) ; 8,26 (1H, dd, $J_1 = 4,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,5 \text{ Hz}$) ; 11,66 (1H, se, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 35,9 ; 68,0 ; 72,4 (CH₂) ; 38,2 (CH) ; 116,0 ; 123,1 ; 127,6 (2C) ; 127,8 ; 127,9 ; 128,5 (2C) ; 143,1 (C tert arom) ; 109,4 ; 118,8 ; 137,5 ; 149,0 (C quat arom) ; 175,8 ; 177,4 (C=O).

3-(2-Benzoyloxyméthyl-2,5-dihydro-2,5-dioxopyrrol-3-yl)-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridine (106)**106**

Le DDQ (234 mg ; 1,03 mmol) est additionné par petites portions à la solution du composé **105** (329 mg ; 0,98 mmol) dans le dioxane (20 mL). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant une nuit. Le mélange est évaporé sous pression réduite. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 1:1 puis THF/cyclohexane 1:1) pour conduire au composé **106** (327 mg ; 0,98 mmol ; R = 100%) sous forme d'un solide jaune.

F = 186 °C

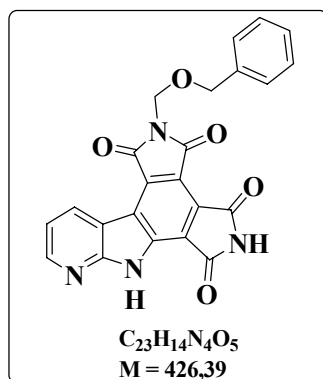
IR (KBr) : $\nu_{C=C} = 1585, 1600 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{C=O} = 1705, 1760 \text{ cm}^{-1}$.

Masse (ESI+) m/z : 334 $[M+H]^+$ 356 $[M+Na]^+$

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 4,60 (2H, s, CH₂) ; 5,02 (2H, s, CH₂) ; 7,16 (1H, s) ; 7,31 (1H, dd, $J_1 = 8,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 4,5 \text{ Hz}$) ; 7,31 (1H, m) ; 7,37 (4H, m) ; 8,41 (1H, dd, $J_1 = 4,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,5 \text{ Hz}$) ; 8,51 (1H, d, $J = 3,0 \text{ Hz}$) ; 8,54 (1H, dd, $J_1 = 8,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,0 \text{ Hz}$) ; 12,66 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 66,4 ; 70,3 (CH₂) ; 116,0 ; 117,5 ; 127,4 (2C) ; 127,5 ; 128,2 (2C) ; 129,0 ; 131,4 ; 144,4 (C tert) ; 104,1 ; 117,7 ; 137,7 ; 138,5 ; 149,1 (C quat) ; 171,0 ; 171,2 (C=O).

2-Benzyloxyméthyl-1,3,4,6-tétrahydro-5H,7H-pyridino[2,3-b]dipyrrolo[3,4-*e*:3,4-*g*]indole-1,3,4,6-tétraone (107**)**



107

Un mélange de composé **106** (329 mg ; 0,99 mmol) et de maléimide (101 mg ; 1,04 mmol ; 1,05 équiv.) dans le *p*-xylène (17 mL) est chauffé à reflux pendant 24 heures. Après retour à température ambiante, le mélange est filtré et le solide est lavé au *p*-xylène puis séché. Le solide orange obtenu (361 mg) est chauffé à reflux dans le dioxane (14,5 mL) pendant 40 heures en présence de DDQ (417 mg ; 1,84 mmol). Après retour à température ambiante le mélange est filtré sur fritté. Le solide est lavé à l'eau et à l'acétate d'éthyle ce qui permet d'obtenir le composé **107** (325 mg ; 0,76 mmol ; R = 77% sur les deux étapes) sous la forme d'un solide jaune pâle.

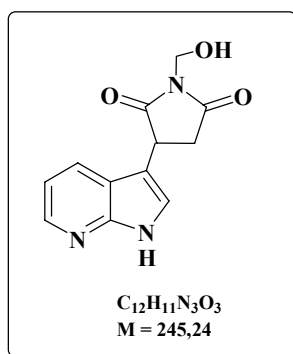
F > 300 °C

IR (KBr) : $\nu_{C=O} = 1715, 1780 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{NH} = 3200 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (FAB+) calculée pour $C_{23}H_{15}N_4O_5$ $[M+H]^+$: 427,1042 ; trouvée 427,1042.

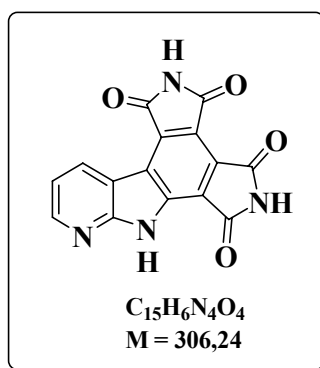
RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 4,69 (2H, s, CH₂) ; 5,22 (2H, s, CH₂) ; 7,28, (1H, m) ; 7,32-7,42 (4H, m) ; 7,54 (1H, dd, $J_1 = 8,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 4,5 \text{ Hz}$) ; 8,74 (1H, dd, $J_1 = 4,5 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,5 \text{ Hz}$) ; 9,21 (1H, dd, $J_1 = 8,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 1,5 \text{ Hz}$) ; 11,70 (1H, s, NH) ; 13,39 (1H, s, NH).

En raison de son insolubilité dans le DMSO, le spectre de RMN ^{13}C du composé **107** n'a pu être enregistré.

3-(1-Hydroxyméthyl-2,5-dioxopyrrolidin-3-yl)-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridine (108)**108**

Une solution du composé **105** (38,2 mg ; 0,114 mmol) dans le TFA (8,8 mL) est chauffée à reflux pendant 32 heures. Après retour à température ambiante, le solvant est co-éaporé au toluène et le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (acétate d'éthyle) ce qui permet d'obtenir le composé **108** (24,2 mg ; 0,099 mmol ; R = 87%) sous forme d'un solide jaune pâle.

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,92 (1H, dd, $J_1 = 18,0$ Hz, $J_2 = 5,5$ Hz) ; 3,28 (1H, dd, $J_1 = 18,0$ Hz, $J_2 = 9,5$ Hz) ; 4,44 (1H, dd, $J_1 = 9,5$ Hz, $J_2 = 5,5$ Hz) ; 4,87 (2H, d, $J = 7,0$ Hz) ; 6,46 (1H, t, $J = 7,0$ Hz, OH) ; 7,09 (1H, dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 4,5$ Hz) ; 7,53 (1H, d, $J = 2,5$ Hz) ; 7,93 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,26 (1H, d, $J = 4,5$ Hz) ; 11,66 (1H, s, NH).

1,3,4,6-Tétrahydro-2H,5H,7H-pyridino[2,3-b]dipyrrolo[3,4-e:3,4-g]indole-1,3,4,6-tétraone (109)**109**

Une solution du composé **107** (100 mg ; 0,234 mmol) dans le TFA (14 mL) est chauffée à reflux pendant 3 jours. Après retour à température ambiante, le mélange réactionnel est évaporé puis repris à l'eau. Le solide est filtré sur fritté, lavé à l'acétate d'éthyle et séché. Le solide obtenu est chauffé à reflux dans le xylène (3 mL) pendant 7 jours. Après retour à température ambiante, le solide est filtré sur fritté et lavé au xylène, à l'eau, à l'acétate d'éthyle, et au THF puis séché. Le composé **109** (44,9 mg ; 0,147 mmol ; R = 63%) est obtenu sous forme d'un solide jaune vert.

F > 300°C

IR (KBr) : $\nu_{\text{C}=\text{C}} = 1590 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{C}=\text{O}} = 1718, 1780 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{NH}} = 3000\text{-}3300 \text{ cm}^{-1}$.

Masse exacte (FAB+) calculée pour $\text{C}_{15}\text{H}_7\text{N}_4\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 307,0467 ; trouvée 307,0477.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 7,53 (1H, dd, $J_1 = 8,0 \text{ Hz}$, $J_2 = 4,5 \text{ Hz}$) ; 8,74 (1H, dd, $J_1 = 4,5 \text{ Hz}$ et $J_2 = 1,5 \text{ Hz}$) ; 9,24 (1H, dd, $J_1 = 8,0 \text{ Hz}$ et $J_2 = 1,5 \text{ Hz}$) ; 11,63 (1H, se, NH) ; 11,68 (1H, se, NH) ; 13,32 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 117,9 ; 134,0 ; 150,5 (C tert arom) ; 112,4 ; 118,8 ; 120,3 ; 122,1 ; 126,8 ; 132,4 ; 136,2 ; 155,4 (C quat arom) ; 166,2 ; 166,3 ; 167,9 ; 169,1 (C=O).

II

Tests biologiques

1. Activité antiproliférative :

Les activités antiprolifératives ont été testées *in vitro* sur différentes lignées de cellules tumorales humaines, HT29 (carcinome humain du côlon), A549 (carcinome pulmonaire à petites cellules), DU145 (carcinome de la prostate), et une lignée murine (leucémie L1210). Les résultats sont exprimés en IC₅₀ (en µM), concentration de la drogue inhibant de 50% la prolifération des cellules.

Les cellules tumorales proviennent d'une collection de culture type Américaine (Frederik, MD, USA). Elles sont cultivées dans un milieu RPMI 1640 (Gibco) agrémenté de 10 % d'un sérum de fœtus de veau, 2 mM de L-glutamine, 100 unités/mL de pénicilline, 100 µg/mL de streptomycine, et 10 mM de tampon HEPES (pH = 7,4). La cytotoxicité est mesurée par essai de microculture tétrazolium, comme décrit dans la littérature.¹⁴⁵ Les cellules sont exposées en continu à des gradients de concentration des composés, puis 15 µL de solution à 5 mg/mL de bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium sont ajoutés à chacune d'elles et le milieu incubé 4 heures à 37 °C. Le milieu est ensuite aspiré et le formazan solubilisé par 100 µL de DMSO. Les résultats sont exprimés en IC₅₀.

2. Effet sur le cycle cellulaire

Pour l'analyse du cycle cellulaire, les cellules L1210 ($2,5 \times 10^5$ cellules/mL) sont incubées pendant 21 heures à des concentrations variées des composés, puis fixées par 70 % d'éthanol (v/v), lavées et incubées dans du PBS contenant 100 µg/mL de ARNase et 25 µg/mL d'iodure de propidium pendant 30 minutes à 20 °C. Pour chaque échantillon, 10^4 cellules sont analysées sur un cytomètre en flux XL/MLC (Beckman Coulter). La fluorescence de l'iodure de propidium est collectée à travers un filtre long-passage à 615 nm.

¹⁴⁵ Léonce, S. ; Pérez, V. ; Casabianca-Pignède, M. R. ; Anstett, M. ; Bisagni, E. ; Atassi, G. *Invest. New Drugs*, **1996**, *14*, 169.

Références bibliographiques

- ¹ Meijer L. *Oncologie*, **2003**, 5, 311-326.
- ² Pommier Y. ; Kohn K. W. *Médecine/Sciences*, **2003**, 19, 173-186.
- ³ Sancar A. ; Lindsey-Boltz L. A. ; Unsal-Kaçmaz K. ; Linn S. *Ann. Rev. Biochem.*, **2004**, 73, 39-85.
- ⁴ Kawabe T. *Mol. Cancer Ther.*, **2004**, 513-519.
- ⁵ Sampath D. ; Plunkett W. *Curr. Opin. Oncology*, **2001**, 13, 484-490.
- ⁶ Carrassa L. ; Brogginini M. ; Rerba E. ; Damia G. *Cell Cycle*, **2004**, 3, 1177-1181.
- ⁷ Luo Y. ; Rockow-Magnone S. K. ; Kroeger P. E. ; Frost L. ; Chen Z. ; Han E. K.-H. ; Ng S.-C. ; Simmer R. L. ; Giranda V. L. *Neoplasia*, **2001**, 3, 411-419.
- ⁸ Chen P. ; Luo C. ; Deng Y. ; Ryan K. ; Register J. ; Margosiak K. ; Tempczyk-Russell A. ; Nguyen B. ; Myers P. ; Lundgren K. ; Kan C. C. ; O'Connor P. *Cell*, **2000**, 100, 681-692.
- ⁹ Zhao B. ; Bower M. J. ; McDewitt P. J. ; Zhao H. ; Davis S. T. ; Johanson K. O. ; Green S. M. ; Concha N. O. ; Zhou B.-B. S. *J. Biol. Chem.*, **2002**, 277, 46609-46615.
- ¹⁰ Anderson H. J. ; Andersen R. J. ; Roberge M. *Progress in Cell Cycle Research* (Meijer L. ; Jézéquel A. ; Roberge M. eds.), **2003**, 5, 423-430.
- ¹¹ Prudhomme M. *Curr. Med. Chem.-Anti-Cancer Agents*, **2004**, 4, 435-438.
- ¹² Sorensen C. S. ; Syljuansen R. G. ; Falck J. ; Schroeder T. ; Rønnstrand L. ; Khanna K. K. ; Zhou B.-B. ; Bartek J. ; Lukas J. *Cancer Cell*, **2003**, 3, 247.
- ¹³ Syljuansen R. G. ; Sorensen C. S. ; Nylansted J. ; Lukas C. ; Lukas J. ; Bartek J. *Cancer Res.*, **2004**, 64, 9035-9040.
- ¹⁴ Kohn E. A. ; Yoo C. J. ; Eastman A. *Cancer Res.*, **2003**, 63, 31-35.
- ¹⁵ Sharma V. ; Tepe J. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 4319-4321.
- ¹⁶ Tepe J. J. US0235820 (**2004**) CA 142:6534.
- ¹⁷ Jiang X. ; Zhao B. ; Britton R. ; Lim L. Y. ; Leong D. ; Sanghera J. S. ; Zhou B.-B. S. ; Piers E. ; Andersen R. J. ; Roberge M. *Mol. Cancer Ther.*, **2004**, 3, 1221-1227.
- ¹⁸ Andersen R. J. ; Roberge M. ; Sanghera J. ; Keung D. WO9947522 (**1999**) CA 131:243459.
- ¹⁹ Berlinck R. G. S. ; Britton R. ; Piers E. ; Lim L. ; Roberge M. ; Moreira da Rocha R. ; Andersen R. J. *J. Org. Chem.*, **1998**, 63, 9850-9856.
- ²⁰ Piers E. ; Britton R. ; Andersen R. J. *J. Org. Chem.*, **2000**, 65, 530-535.
- ²¹ Reich S. H. ; Wallace M. B. US0006952 (**2002**) CA 135:331420.
- ²² Jonhson M. D. ; Teng M. ; Zhu J. WO05009435 (**2005**) CA 142:198068.
- ²³ Dyckman A. J. ; Das J. ; Leftheris K. ; Liu C. ; Moquin R. V. ; Wroblewski S. T. US0248853 (**2004**) CA 141:424182.
- ²⁴ Tong Y. ; Claiborne A. K. ; Li G. ; Lin N.-H. ; Sham H. L. ; Sowin T. J. ; Tao Z.-F. US0259904 (**2004**) CA 141:277618.
- ²⁵ Fancelli D. ; Pittala V. ; Varasi M. US0171357 (**2003**) CA 136:183816.
- ²⁶ Pevarello P. ; Orsini P. ; Traquandi G. ; Brasca G. ; Amici R. ; Villa M. ; Piutti C. ; Varasi M. ; Longo A. US0019046 (**2004**) CA 137:47193.
- ²⁷ Bergmanis A. A. ; Clare M. ; Crich J. Z. ; Geng L. ; Hagen T. J. ; Hanson G. J. ; Houdek S. ; Huang H. ; Iula D. M. ; Koszyk F. J. ; Liao S. ; Molher S. B. ; Nguyen M. ; Partis R. A. ; Stealey M. A. ; Tollefson M. B. ; Weier R. M. ; Xu X. ; Bonafoux D. ; Fletcher T. R. ; Hamper B. C. ; Lennon P. J. ; Liao S. ; Metz S. ; Oburn D. S. ; Owen T. J. ; Scates A. M. ; Vazquez M. L. ; Wolfson S. G. US0110741 (**2004**) CA 138:271675 .
- ²⁸ Berta D. G. ; Forte B. ; Mantegani S. ; Varasi M. ; Vianello P. US0032869 (**2005**) CA 142:134591.

-
- ²⁹ Singh J. ; Tripathy R. US0162775 (**2003**) CA 134:340503.
- ³⁰ Cavicchioli M. ; Pevarello P. ; Salom B. ; Vulpetti A. US0059657 (**2005**) CA 138:187773.
- ³¹ Traquandi G. ; Brasca M. G. ; Orsini P. ; Piutti C. ; Vulpetti A. ; Pevarello P. US0116497 (**2004**) CA 137:232645.
- ³² Chu S. S. ; Alegria L. A. ; Bender S. L. ; Benedict S. P. ; Borchardt A. J. ; Kania R. S. ; Nambu M. D. ; Tempczyk-Russell A. M. ; Sarshar S. ; Bhumralkar D. ; Peng Z. ; Yang M. US0025976 (**2002**) CA 134:42124.
- ³³ Pevarello P. ; Amici R. ; Villa M. ; Solom B. ; Vulpetti A. ; Varasi M. ; Brasca M. G. ; Traquandi G. ; Nesi M. US0235919 (**2004**) CA 142:6523.
- ³⁴ Parrish C. A. ; Callahan J. F. ; Wan Z. ; Burgess J. L. ; Sravenger R. A. ; Holt D. A. WO03028731 (**2003**) CA 138:304152.
- ³⁵ Parrish C. A. ; Callahan J. F. ; Li Y. ; Sravenger R. A. ; Holt D. A. WO03029241 (**2003**) CA 138:304153.
- ³⁶ Bender S. ; Skalitzy D. J. ; Hu.-Lowe D. US0038097 (**2005**) CA 142:212410.
- ³⁷ Kania R. S. ; Bender S. L. ; Borchardt A. J. ; Cripps S. J. ; Palmer C. L. ; Tempczyk-Russell A. M. ; Varney M. D. ; Collins M. R. US0124662 (**2005**) CA 142:212410.
- ³⁸ Kephart S. E. ; McAlpine I. J. ; Reich S.H. US0026960 (**2005**) CA 142:198077.
- ³⁹ Reich S. H. ; Bleckman T. M. ; Kephart E. ; Romines W. H. ; Wallace M. B. US6555539 (**2003**) CA 135:137505.
- ⁴⁰ Bhagwat S. S. ; Satoh Y. ; Sakata S. T. ; Buhr C. A. ; Albers R. ; Sapienza J. ; Plantevin V. ; Chao Q. ; Sahasrabudhe K. ; Ferri R. ; Narla R. K. US0009876 (**2005**) CA 142:134589.
- ⁴¹ Amici R. ; D'Anello M. ; Martina K. ; Salom B. ; Vulpetti A. US0254177 (**2004**) CA 138:304278.
- ⁴² Wang G. T. ; Li G. ; Mantei R. A. ; Chen Z. ; Kovar P. ; Gu W. ; Xiao Z. ; Zhang H. ; Sham H. L. ; Sowin T. ; Rosenberg S. H. ; Lin N.-H. *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 3118-3121.
- ⁴³ Keegan K. S. ; Kesicki E. A. ; Gaudino J. J. ; Cook A. W. ; Cowen S. C. ; Burgess L. E. US0069284 (**2003**) CA 137:232680.
- ⁴⁴ Li G. ; Li Q. ; Li T. ; Lin N.-H. ; Mantei R. A. ; Sham H. L. ; Wang G. T. ; US0259885 (**2004**) CA 142:74611.
- ⁴⁵ Boyle R. G. ; Imogai H. I. ; Cherry M. US0014765 (**2004**) CA 140:16750.
- ⁴⁶ Boyle R. G. ; Imogai H. I. ; Cherry M. ; Humphries A. J. ; Navarro E. F. ; Owen D. R. ; Dales N. A. ; Lamarche M. ; Cullis C. ; Gould A. E. WO05028474 (**2005**) CA 142:355175.
- ⁴⁷ Tao Z.-F. ; Lin N.-H. ; Wang L. ; Sowin T. J. US0096324 (**2005**) CA 142:430309.
- ⁴⁸ Booth R. J. ; Denny W. A. ; Dobrusin E. M. ; Kraker A. J. ; Mitchell L. H. ; Smaill J. B. ; Thompson A. M. ; Lee H. H. ; McCarthy F. O. J. ; Palmer B. D. WO03091255 (**2003**) CA 139:381469.
- ⁴⁹ Gilmartin A. G. ; Ho M. L. ; Imbruglia C. S. ; Roshak A. K. ; Lago M. A. WO0016781 (**1999**) CA 132:246345.
- ⁵⁰ O'Neill D. J. ; Shen L. ; Prouty C. ; Conway B. R. ; Westover L. ; Xu J. Z. ; Zhang H.-C. ; Maryanoff B. E. ; Murray W. V. ; Demarest K. T. ; Kuo G.-H. *Bioorg. Med. Chem.*, **2004**, *12*, 3167-3185.
- ⁵¹ Lin N.-H. ; Sham H. L. ; Xia P. US0162785 (**2003**) CA 139:214337.
- ⁵² Hasvold L. A. ; Hexamer L. ; Li G. ; Lin N.-H. ; Sham H. ; Sullivan G. M. ; Wang L. ; Xia P. US0254159 (**2004**) CA 142:38288.
- ⁵³ Benedict S. ; Bennett M. ; Ninkovic S. ; Teng M. ; Rui Y. ; Wang F. US0075499 (**2005**) CA 141:157141.
- ⁵⁴ Ninkovic S. ; Bennett M. J. ; Rui Y. ; Wang F. ; Benedict S. P. WO04063198 (**2004**) CA 141:157141.

- ⁵⁵ Bryant J. ; Kochanny M. J. ; Yuan S. ; Khim S.-K. ; Buckman B. O. ; Arnaiz D. O. ; Bomer U. ; Briem H. ; Esperling P. ; Huwe C. ; Kuhnke J. ; Schafer M. ; Wortmann L. ; Kosemund D. ; Eckle E. ; Feldman R. J. ; Phillips G. B. US0186118 (2004) CA 141:38625.
- ⁵⁶ Foloppe N. ; Fisher L. M. ; Howes R. ; Kierstan P. ; Potter A. ; Robertson G. S. ; Surgenor A. E. *J. Med. Chem.*, **2005**, 48, 4332-4345.
- ⁵⁷ Buhr C. A. ; Baik T.-G. ; Ma S. ; Tesfai Z. ; Wang L. ; Co E. W. ; Epshteyn S. ; Kennedy A. R. ; Chen B. ; Dubenko L. ; Anand N. K. ; Tsang T. H. ; Nuss J. M. ; Peto C. J. ; Rice K. D. ; Ibrahim M. A. ; Schnepf K. L. ; Shi X. ; Leahy J. W. ; Chen J. ; Dalrymple L. E. ; Forsyth T. P. ; Huynh T. P. ; Mann G. ; Mann L. W. ; Takeuchi C. S. WO03093297 (2003) CA 139:395950.
- ⁵⁸ Jacobs R. S. ; Marshall L. A. ; Gerwick W. H. ; Stevenson C. US0022589 (2002) CA 136:178020.
- ⁵⁹ Li Q. ; Woods K. W. ; Zhu G.-D. ; Fisher J. P. ; Gong J. ; Li T. ; Gandhi V. ; Thomas S. A. ; Packard G. K. ; Song X. ; Abrams J. N. ; Dieblod R. ; Dinges J. ; Hutchins C. ; Stoll V. S. ; Rosenberg S. H. ; Giranda V. L. US0187026 (2003) CA 139:292151.
- ⁶⁰ Stavenger R. A. ; Witherington J. ; Rawling D. A. ; Holt D. A. ; Chan G. WO03/028724 (2003) CA 138:304265.
- ⁶¹ Barsanti P. A. ; Bussiere D. ; Harrison S. D. ; Heise C. C. ; Jansen J. M. ; Jazan E. ; Michajewski T. D. ; McBride C. ; McCrea JR. W. R. ; Ng S. ; Ni Z. ; Pecchi S. ; Pfister K. B. ; Ramurthy S. ; Renhowe P. A. ; Shafer C. M. ; Sliver J. B. ; Wagman A. S. ; Wiesmann M. US0092535 (2004) CA 140:235711.
- ⁶² Rui E. Y. ; Johnson JR. T. O. ; Kellum J. H. US0148643 (2005) CA 143:115539.
- ⁶³ Pulici M. US0020583 (2005) CA 138:170245.
- ⁶⁴ Vanotti E. ; D'Alessio R. ; Tibolla M. ; Varasi M. ; Montagnoli A. ; Santocanale C. ; Orsini P. ; Pillan A. US0043323 (2005) CA 142:240452.
- ⁶⁵ Vanotti E. ; D'Alessio R. ; Tibolla M. ; Montagnoli A. ; Santocanale C. ; Orsini P. ; Pillan A. US0043346 (2005) CA 142:240320.
- ⁶⁶ Suguma M. ; Takawabe T. ; Hori H. ; Funabiki T. ; Okamoto T. *Cancer Res.*, **1999**, 59, 5887-5891.
- ⁶⁷ Kawabe T. ; Kobayashi H. US0248783 (2004) CA 139:391326.
- ⁶⁸ Kawabe T. ; Kobayashi H. US0198727 (2004) CA 140:23229.
- ⁶⁹ Hugon B. ; Pfeiffer B. ; Renard P. ; Prudhomme M. *Tetrahedron Letters*, **2003**, 44, 3935-3937.
- ⁷⁰ Hénon H. ; Messaoudi S. ; Hugon B. ; Anizon F. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *Tetrahedron*, **2005**, 61, 5599-5614.
- ⁷¹ Bergman J. ; Janosik T. ; Koch E. ; Pelcman B. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I.*, **2000**, 2615-2621.
- ⁷² Bergman J. ; Desarbre E. ; Koch E. ; *Tetrahedron*, **1999**, 55, 2363-2370.
- ⁷³ Chilshom J. D. ; Van Vranken D. L. *J. Org. Chem.*, **2000**, 65, 7541-7553.
- ⁷⁴ Marminon C. ; Anizon F. ; Moreau P. ; Léonce S. ; Pierré A. ; Pfeiffer B. ; Renard P. ; Prudhomme M. *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 1330-1339.
- ⁷⁵ Kalgutkar A. S. ; Crews B. C. ; Marnett L. J. ; *J. Med. Chem.* ; **1996**, 39, 1692-1703.
- ⁷⁶ Balle T. ; Perragaard J. ; Ramirez M. T. ; Larsen A. K. ; Soby K. K. ; Liljefors T. ; Andersen K. *J. Med. Chem.*, **2003**, 46, 265-283.
- ⁷⁷ Fukuda Y. ; Furuta H. ; Kusama Y. ; Ebisu H. ; Oomori Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1998**, 8, 1387-1390.
- ⁷⁸ Jeffery T. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1991**, 324-325
- ⁷⁹ Jeffery T. *Tetrahedron Lett.*, **1991**, 32, 2121-2124.

- ⁸⁰ Sajiki H. ; Kuno H. ; Hirota K. *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, 7127-7130.
- ⁸¹ Sajiki H. ; Hirota K. *Tetrahedron*, **1998**, 54, 13981-13996.
- ⁸² DeFrees S. A. ; Reddy K. S. ; Cassady J. M. *Synthetic Commun.*, **1998**, 18, 213-220.
- ⁸³ Bischofberger N. ; Waldmann H. ; Saito T. ; Simon E. S. ; Lees W. ; Bednarski M. D. ; Whitesides M. *J. Org. Chem.*, **1988**, 53, 3457-3465.
- ⁸⁴ Soheili A. ; Albaneze-Walker J. ; Murry J. A. ; Dormer P. G. ; Hughes D. L. *Organic Letters*, **2003**, 5, 4191-4194.
- ⁸⁵ Yang Y. ; Martin A. R. ; Nelson D. L. ; Regan J. *Heterocycles*, **1992**, 34, 1169-1175.
- ⁸⁶ Cheng J. ; Wang F. ; Xu J.-H. ; Pan Y. ; Zhang Z. *Tetrahedron Lett.*, **2003**, 44, 7095-7098.
- ⁸⁷ Klapars A. ; Buchwald S. L. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 14844-14845.
- ⁸⁸ Yamada K. ; Kurokawa T. ; Tokuyama H. ; Fukuyama T. *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 6630-6631.
- ⁸⁹ Song Y.-L. ; Morin C. *Synlett*, **2001**, 2, 266-268.
- ⁹⁰ Jian H. ; Tour J. M. *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 5091-5103.
- ⁹¹ Morita T. ; Takase K. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1982**, 55, 1144-1152.
- ⁹² Ito S. ; Kubo T. ; Morita N. ; Matsui Y. ; Watanabe T. ; Ohta A. ; Fujimori K. ; Murafuji T. ; Sugihara Y. ; Tajiri A. *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 2891-2894.
- ⁹³ Anderson B. A. ; Becke L. M. ; Booher R. N. ; Flaugh M. E. ; Harn N. K. ; Kress T. J. ; Varie D. L. ; Wepsec J. P. *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 8634-8639.
- ⁹⁴ Gallant M. ; Link J. T. ; Danishefsky S. J. *J. Org. Chem.*, **1993**, 58, 343-349.
- ⁹⁵ Mellor B. J. ; Thomas E. J. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I*, **1998**, 747-757.
- ⁹⁶ Labadie S. S. ; Teng E. *J. Org. Chem.*, **1994**, 59, 4250-4254.
- ⁹⁷ Muchowski J. M. ; Solas D. R. *J. Org. Chem.*, **1984**, 49, 203-205.
- ⁹⁸ Anderson H. J. ; Groves J. K. *Tetrahedron Lett.*, **1971**, 3165.
- ⁹⁹ Shen L. ; Prouty C. ; Conway B. R. ; Westover L. ; Xu J. Z. ; Look R. A. ; Chen X. ; Beavers M. P. ; Roberts J. ; Murray W. V. ; Demarest K. T. ; Kuo G.-H. *Bioorg. Med. Chem.*, **2004**, 12, 1239-1255.
- ¹⁰⁰ Faul M. M. ; Winneroski L. L. ; Krumrich C. A. *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 2465-2470.
- ¹⁰¹ Melnik S. Y. ; Bakhmedova A. A. ; Garaeva L. D. ; Goryunova O. V. ; Miniker T. D. ; Plikhtyak I. L. ; Ektova L. V. ; Ivanova T. P. ; Yartseva I. V. *Bioorganicheskaya Khimiya*, **1996**, 22, 467-476.
- ¹⁰² Lanzilotti A. E. ; Littell R. ; Fanshawe W. J. ; McKenzie T. C. ; Lovell F. M. *J. Org. Chem.*, **1979**, 26, 4809-4813.
- ¹⁰³ Ohkubo M. ; Kawamoto K. ; Ohno T. ; Nakano M. ; Morishima H. *Tetrahedron*, **1997**, 53, 585.
- ¹⁰⁴ Bayle C. ; Defaye J. ; Horton D. ; Lehman J. ; Scheuring M. ; *Carbohydr. Res.*, **1992**, 232, 375-380.
- ¹⁰⁵ Brenner M. ; Rexhausen H. ; Steffan B. ; Steglich W. *Tetrahedron*, **1988**, 44, 2887.
- ¹⁰⁶ Terpin A. ; Winklhofer C. ; Schumann S. ; Steglich W. *Tetrahedron*, **1998**, 54, 1745-1752.
- ¹⁰⁷ Wang L. ; Liu X. ; Chen R. WO03051900 (**2003**) CA 139:47135.
- ¹⁰⁸ Anizon F. ; Moreau P. ; Sancelme M. ; Laine W. ; Bailly C. ; Prudhomme M. *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, 11, 3709-3722.
- ¹⁰⁹ Vaultier M. ; Knousi N. ; Carrie R. ; *Tetrahedron Lett.*, **1983**, 24, 763-764.
- ¹¹⁰ Hong F. ; Zaidi J. ; Cusack B. ; Richelson E. *Bioorg. Med. Chem.*, **2002**, 10, 3849-3858.
- ¹¹¹ Moreau P. ; Sancelme M. ; Bailly C. ; Léonce S. ; Pierré A. ; Hickman J. ; Pfeiffer B. ; Prudhomme M. *J. Med. Chem.*, **2001**, 36, 887-897.
- ¹¹² Bailey S. ; Scott P. W. ; Vandervala M. H. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I*, **1980**, 97-101.
- ¹¹³ Smith N. L. *J. Am. Chem. Soc.*, **1950**, 72, 4313-4314.
- ¹¹⁴ Battersby A. R. ; Westwood S. W. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, **1987**, 1679-1687.

-
- ¹¹⁵ Mak C.C. ; Brisk A. ; Lerner D. L. ; Elder J. H. ; Morris G. M. ; Olson A. J. ; Wong C.-H. *Bioorg Med. Chem.*, **2003**, *11*, 2025-2040.
- ¹¹⁶ El-Nagger A. M. ; Ahmed F. S. M. ; Abd El-Salam A. M. ; El-Gazzar M. A. *J. Heterocyclic Chem.*, **1982**, *19*, 1025-1028.
- ¹¹⁷ Rasheed A. ; Ravichandran V. ; Kohli D. V. *Pharmazie*, **1999**, *54*, 857-858.
- ¹¹⁸ Clemence F. ; Le Martret O. ; Delevallee F. ; Benzoni J. ; Jouanen A. ; Jouquey S. ; Mouren M. ; Deraedt R. *J. Med. Chem.*, **1988**, *31*, 1453-1462.
- ¹¹⁹ Marminon C. ; Pierré A. ; Pfeiffer B. ; Pérez V. ; Léonce S. ; Renard P. ; Prudhomme M. *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, *11*, 679-687.
- ¹²⁰ Marminon C. ; Pierré A. ; Pfeiffer B. ; Pérez V. ; Léonce S. ; Joubert A. ; Bailly C. ; Renard P. ; Hickman J. ; Prudhomme M. *J. Med. Chem.*, **2003**, *46*, 609-622.
- ¹²¹ Hugon B. ; Pfeiffer B. ; Renard P. ; Prudhomme M. *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 4607-4611.
- ¹²² Zembower D. E. ; Zhang H. ; Lineswala J. P. ; Kuffel M. J. ; Aytes S. A. ; Ames M. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1999**, *9*, 145-150.
- ¹²³ Chern C.-Y. ; Huang Y.-P. ; Kan W. M. *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 1039-1042.

Résumé

D'importantes recherches en biologie moléculaire ont permis de mettre en évidence l'existence de régulateurs du cycle cellulaire. Ces régulateurs peuvent jouer un rôle dans le déroulement du cycle cellulaire en effectuant une sorte de « contrôle qualité » à chaque étape du cycle. Ils peuvent bloquer sa progression lorsqu'une anomalie est détectée, par exemple lorsque l'ADN est endommagé, et permettre sa réparation. On note ainsi deux points de contrôle du cycle cellulaire, en G1/S et G2/M. Récemment, deux composés, la granulatinide et l'isogranulatinide, ont été isolés d'une ascidie, *Didemnum granulatum*. Ces composés ont montré une activité inhibitrice intéressante sur le point de contrôle en G2. Cet intérêt provient du fait que la plupart des cellules cancéreuses ont un point de contrôle en G1 déficient suite à une mutation du gène *p53* et que seul le point de contrôle en G2, bien que partiellement défectueux, permet l'arrêt du cycle cellulaire nécessaire à la réparation de l'ADN endommagé. Ainsi, les inhibiteurs du point de contrôle en G2, couplés à l'action d'agents endommageant l'ADN, vont entraîner les cellules cancéreuses vers une mitose précoce et létale.

Dans ce travail une première partie bibliographique est consacrée à la présentation du point de contrôle en G2 du cycle cellulaire, et plus particulièrement de la checkpoint 1 kinase Chk1 et de ses inhibiteurs.

Dans une seconde partie la synthèse d'analogues de la granulatinide et de l'isogranulatinide pour lesquels l'hétérocycle imidazole est remplacé par un maléimide est décrite. Nous avons exploré plusieurs voies d'accès à de nouveaux analogues substitués par divers groupements sur les différentes parties de la molécule de référence. Nous avons également effectué la synthèse de dérivés pour lesquels l'indole a été remplacé par un 7-azaindole.

Une troisième partie présente les résultats des tests d'activités biologiques effectués. Tous les analogues synthétisés ont été testés sur plusieurs lignées cellulaires cancéreuses par les Laboratoires SERVIER pour évaluer leur cytotoxicité. Les effets sur le cycle cellulaire ont également été étudiés sur quelques analogues.

Abstract

Many important biology molecular researches highlight the existence of cellular cycle regulator. They could operate in the development of the cellular cycle doing so as control quality. When anomaly is detected, as DNA damage, they could stop his progression and allowed DNA repairs. They are anymore two cycle cellular checkpoint in G1/S and G2/M. Recently two compounds have been isolated by an ascidie, *Didemnum granulatum*, the granulatinide and isogranulatinide. Theirs compounds have an interesting inhibitor activity toward the G2 checkpoint. Indeed, most cancerous cells have a deficient G1 checkpoint consequence of mutation of the *p53* gene and so only the G2 checkpoint allowed the cycle cellular arrest. It result that the simultaneous action of inhibitors of the G2 checkpoint and DNA damaging agent may along early and lethal mitosis.

In this work, the first part is devoting to the presentation of the cycle cellular G2 checkpoint and most particularly the checkpoint one kinase and her inhibitors.

In a second part, we introduce synthesis of granulatinide's analogue where the imidazole heterocycle have been replaced by maleimide. A lot of synthesis pathway have been developed. We also carry out the synthesis in 7 azaindole series.

In a third part the antiproliferative activities was exposed. All the compounds were evaluated by the SERVIER Laboratories.